

**Interreg - IPA CBC**

Croatia - Serbia

MOS-Cross



Trening za zdravstvene radnike u okviru projekta  
„Kontrola komaraca u pograničnoj oblasti“ MOS-Cross

Obuka za zdravstvene djelatnike u okviru projekta  
„Kontrola komaraca u pograničnom području“ MOS-Cross



**Trening za zdravstvene radnike u okviru projekta  
„Kontrola komaraca u pograničnoj oblasti“  
MOS-Cross**

Doc. dr sc. Dušan Marinković  
Doc. dr sc. Željka Jeličić Marinković  
Dr. med. Nataša Nikolić

# SADRŽAJ

1. KONTROLA I SUZBIJANJE KOMARACA.....	5
1.1. Uvod.....	5
1.2. Komarci kao vektori.....	7
1.3. Monitoring komaraca.....	10
1.3.1. Monitoring larvi.....	10
1.3.2. Monitoring odraslih komaraca.....	14
1.3.3. Metode za sakupljanje odraslih komaraca... 15	
2. PREDIKCIJSKI MODELI U PROGRAMIMA	
KONTROLE I SUZBIJANJA KOMARACA.....	22
2.1. Suzbijanje komaraca u rečnim slivovima....	24
3. BIOLOGIJA I DETERMINACIJA KOMARACA.....	28
3.1. Ovipozicija.....	28
3.2. Embriološki razvoj i piljenje.....	30
3.3. Larve.....	31
3.4. Lutka.....	33
3.5. Odrasli.....	34
3.6. Disperzija i pronalazak domaćina.....	35
3.7. Ishrana.....	37
3.8. Morfologija komaraca.....	39
3.8.1. Odrasli.....	39
3.8.2. Jaja.....	42
3.8.3. Larva.....	43
3.8.4. Lutka.....	44
3.9. Životni ciklus.....	45
4. LABORATORIJSKA DIJAGNOSTIKA VIRUSA	
ZAPADNOG NILA.....	53
4.1. Prenos i rezervoar Virus zapadnog Nila....	54
4.2. Rasprostranjenost Virus zapadnog Nila....	54
4.3. Groznica zapadnog Nila.....	56
4.3.1. Lečenje WNV.....	57
4.3.2. Dijagnostika WNV infekcije.....	58
4.3.3. Dijagnostike WNV u tkivu komaraca.....	60
4.3.4. PCR - POLIMERAZA LANČANA REAKCIJA.....	62
4.3.5. Postavka PCR reakcije.....	64
4.3.6. Oprema za PCR.....	64
5. LITERATURA.....	67

# 1. KONTROLA I SUZBIJANJE KOMARACA

## 1.1. Uvod

Tokom druge polovine 20. veka, uloga komaraca kao vektora zaraznih oboljenja, isključivo se vezivala za tropske i subtropske površine. Krajem 50-tih godina prošlog veka, nestanak i iskorenjivanje malarije i denga groznice imao je veliku ulogu na svest ljudi koji žive u Evropi, s obzirom da su sada bili bezbedni i zaštićeni od bolesti koje prenose komaraci. Početkom 21. veka situacija se značajno promenila. Globalizacija, koja se ogleda kroz putovanje, trgovinu i turizam, dovodi do toga da se iz godine u godinu povećava broj ljudi u Evropi koji su zaraženi bolestima koje prenose komarci. Bez obzira na velike napore Svetske zdravstvene organizacije (WHO), još uvek, svake godine, više od 200,000.000 ljudi u svetu oboli, a 600.000 do 1,000.000 umre od malarije (<http://www.who.int>), bolesti koju prenose komarci.

U klimatskim uslovima našeg podneblja, uz prihvatanje činjenice globalnog zagrevanja, promene srednjih godišnjih temperatura i hidro-režima, kako reka tako i atmosferskih padavina, dolazi do pomeranja rasprostranjenja pojedinih vrsta komaraca, koji su nekada bili vezani isključivo za tropska područja ili regione manjih geografskih širina, na severnije amplitude, tako da je ekološka niša, naročito komaraca, koji su od medicinske i veterinarske važnosti značajno proširena (Gratz, 2003). Takođe je poslednjih godina u evropskom regionu utvrđeno da se granica patogena, koja je bila vezana za uži pojas ekvatora, proširila na sever, i da osim mediteranskog područja prelazi i na kontinentalni deo.

U svetlu ovog aspekta, vrste koje ranije nisu bile prisutne na području se šire (kao *Aedes albopictus*, poznat kao azijski tigar) i mogu da prenose prouzrokovače opasnih bolesti po čoveka (kao što su encefalitis (meningitis) žuta groznica ili smrtonosne bolesti za konje i divljač) (Dauphin i sar., 2005).

Mnogobrojni literaturni podaci iz prošle godine ukazuju na pojavu Čikungunje, endemskog oboljenja zastupljenog u južnoj Indiji i severnoj Italiji (Enserink, 2007). Tokom avgusta i septembra 2007. godine najmanje 200 ljudi inficirano je virusom Čikungunje u regionu grada Ravene (Chong, 2007). U Rumuniji, tokom 1996. godine, u reonu grada Bukurešta, zabeleženo je 393 osobe sa potvrđenim oboljenjem Virus Zapadnog Nila (Tsai i sar., 1998).

Prva pojava virusa Zapadnog Nila u Srbiji zabeležena je 2010. godine. Te i sledeće, 2011. godine (Petrić neobjavljena istraživanja), je iz kućnih komaraca sakupljenih na teritoriji Novog Sada izolovan virus Zapadnog Nila, koji je 2010. izazvao epidemije u Grčkoj, Rusiji i Rumuniji (<http://ecdc.europa.eu>). U Srbiji je tokom 2017. godine zabeleženo 33 slučaja, u Grčkoj 40, u Mađarskoj 10 slučaja sa potvrđenim oboljenjem WNV. Ovim se značaj komaraca kao prenosioca još više izražava, te je u okviru preventivnih mera ili u slučaju epidemija neophodno korišćenje novih tehnologija i saznanja u detekciji izvorišta i praćenju saniranja brojnostih ovih insekata (Knols & Takken, 2007).

Obaveza svake od članica zemalja Evropske unije je obezbeđivanje informacija i procena rizika o svim infektivnim oboljenjima, a naročito o bolestima čiji su prenosioci komarci. Mogućnost procene rizika najviše zavisi od dostupnih podataka, a u slučaju komaraca kao vektora to su: vektorska raznolikost, biologija, ekologija i fenologija komaraca. Unapređenjem mera kontrole brojnosti komaraca i mogućnosti njihovog suzbijanja, koji bi bili implementirani u nacionalne programe kontrole komaraca, u značajnoj meri bi se smanjilo vreme potrebno za sprečavanje unošenja i širenja novih vektora/virusa koji realno prete našem podneblju, odnosno preveniralo širenje bolesti. Zbog svega navedenog, neophodno je hitno izraditi planove nadzora (najbolje bi bilo na regionalnom/državnom nivou, ali kako je taj proces dugotrajan, ugrožene opštine/gradovi bi odmah trebale da to učine na lokalnom nivou i kasnije usklade sa nacionalnim planom) i konkretnih mera preventivne zaštite i intervencije (suzbijanje komaraca vektora) u slučaju epidemije (na lokalnom nivou).

Nerealno je i basnoslovno skupo očekivati da komaraca „nema“, odnosno da ih bude toliko malo da ih ne primećujemo. Projektom kontrole komaraca u pograničnom području - MOS-CROSS, utvrđivaće se kvantitativan i kvalitativan sastav faune komaraca, na osnovu kojeg će se projektovati mape s leglima, standardnim metodama kontrole uzorkovaće se komarci radi utvrđivanja prisutnosti potencijanih virusa u njima, te uz pomoć mapa provodiće se suzbijanje komaraca na čitavom pograničnom području. U skladu s navednim ciljevima projektom će se pokazati jasne smernice o prilagođenim metodama kontrole i nadzora, koje podstiču obe međugranične države da sakupljaju određene podatke o invazivnim vrstama komaraca na terenu. Ranim i pravovremenim otkrivanjem invazivnih vrsta komaraca povećava se mogućnost adekvatnih i pravovremenih mera kontrole, njihovog teritorijalnog širenja te prevencije bolesti koje prenose. Osim toga, u područjima gde su se uspostavile invazivne vrste komaraca, nadzor njihovog delovanja i širenja potrebno je dobro poznavati, kako bi se pravovremeno napravile procene rizika prenosa patogena na ljude.

## 1.2. Komarci kao vektori

Komarci (*Diptera, Culicidae*) su jedna od najrasprostranjenijih grupa insekata u svetu, sa oko 3538 vrsta (Harbach, 2014). Njihovo kosmopolitsko rasprostranjenje izaziva pažnju i proučavanje na svim kontinentima. Komarci naseljavaju sve delove sveta (od tropskih prašuma, savana pa sve do subpolarnih predela), a jedino nisu registrovani u konstantno zamrznutim predelima zemljine kugle. Larve komaraca su pronađene u najrazličitijim vodenim biotopima. Takođe, njihovo prisustvo se registruje u veoma malim recipijentima vode, kao što su otvori u stablima, odbačenim konzervama, vazama za cveće i sl.

Do sada je na teritoriji Srbije registrovano 40 vrsta komaraca, od čega su u Vojvodini zabeležene 32 vrste komaraca (Srđić i sar., 1986). Vrste iz rodova *Aedes/Ochlerotatus*, *Anopheles* i *Culex* su najbrojnije. Smatra se da su vrste roda *Culex* najrasprostranjenije u svetu (Al-Sarar i sar., 2011). Prenosioci su mnogih patogenih oboljenja (filarije, West Nile virusa i dr.) kako za čoveka, tako i za životinje.

Komarci se izdvajaju kao najvažnija grupa hematofagnih insekata, koji se hrane na čoveku, drugim sisarima, pticama i gmizavcima (Harwood & James, 1979). Proučavanje komaraca značajno je zbog remećenja normalnih životnih aktivnosti čoveka, te zbog njihove medicinske i veterinarske važnosti, kao vektora opasnih bolesti (malariae, filarijaze i brojnih arbovirusa čoveka, divljih i domaćih životinja). Sa aspekta javnog zdravlja, ishrana krvlju ljudi i životinja je deo ponašanja koji čini ženke komaraca toliko važnim, jer uzimanjem prvog obroka krvi one mogu usisati i patogene iz zaraženog domaćina. Tokom uzimanja hrane, ženka ubrizgava pljuvačku koja sprečava zgrušavanje krvi, a veliki broj patogena je evoluirao u pravcu sposobnosti da se akumuliraju u pljuvačnim žlezdama i iskoriste ovaj put prenošenja kako bi parazitirali svoje domaćine. Ženka na taj način, svojom pljuvačkom (u kojoj se nalaze patogeni), tokom uzimanja sledećeg krvnog obroka, može zaraziti novog čoveka/životinju. Zbog kapaciteta koji poseduju u širenju virusa, protozoa, filarija ili bakterija, prouzrokovala bolesti ljudi i životinja (mogu ozbiljno da utiču na živote miliona ljudi), takve vrste komaraca nazivaju se „vektori“ (prenosioci) bolesti.

U prisustvu lokalnih izvora infekcije i pogodnih klimatskih uslova, verovatnoća da vektor prenese patogena raste sa brojnošću vektora. Međutim, prenošenje može biti moguće i ako je gustina populacija vektora niska ili umerena, u slučaju kada prisutna vrsta komaraca ima visok kapacitet (sposobnost) prenošenja (% zaraženih ženki).

Promene klime i životne sredine, te različit hidro-režim u pograničnom području, mogu doprineti tome da se potencijalni vektori, a sa njima i bolesti koje prenose, nezapaženo prošire i pojave u oblastima gde ranije nisu postojali (Tabela 1).

Tabela 1: Važni patogeni čoveka koji prete Srbiji (prema ECDC 2012)

Patogen	Bolest	Smrtnost (%)	Prenošenje u Evropi	Komarci vektori na čoveka
<b>Arbovirusi</b>				
Čikungunja virus	febrilna/teška	vrlo niska	Italija 2007; Francuska 2010	<i>St. albopicta</i>
Virus denge 1-4	febrilna hemoragična	3-12	Do početka XX veka; Hrvatska i Francuska 2010	<i>St. albopicta</i>
Virus doline Rift	febrilna	0	Još nije registrovan	<i>Aedes spp., Culex spp.</i>
Sindbis virus	febrilna	0	Endemičan u Severnoj Evropi	<i>Aedes cinereus, Cx. pipiens pipiens</i>
Virus japanskog encefalitisa	encefalitis	30-40	Italija, 2012	<i>Culex spp.</i>
Virus Zapadnog Nila	febrilna encefalitis	3-15	Endemičan u Južnoj Evropi	<i>Cx. p. pipiens, Cx. modestus</i>
<b>Plasmodium protozoa</b>	malaria, febrilna otkazivanje funkcije bubrega	1-7 (mlađi od 5 godina)	Endemična do polovine XX veka; posle toga sporadični slučajevi; epidemija u Grčkoj 2011	<i>Anopheles spp.</i>



Takav scenario ne mora proisteći samo iz aktivnog širenja vektora, već isto tako može biti posledica aktivnosti čoveka koje doprinose njihovom pasivnom transportu (npr. u automobilima, vozovima i avionima). Možda je još važnija činjenica da eksplozivna globalizacija i povećanje međunarodnih i interkontinentalnih putovanja i trgovine značajno povećava rizik od slučajnog unošenja vektora i kičmenjaka rezervoara bolesti (onih koji nose patogena). Programi suzbijanja komaraca će stoga verovatno morati da zamene strategiju prilagođenu suzbijanju komaraca „dosađivača“ (molestanata) sa strategijom suzbijanja vektora, koja podrazumeva prilagođavanje i podizanje efikasnosti metoda koje će se koristiti u cilju bolje i brže kontrole. Za razliku od većine zemalja Evrope, gde se zadovoljavajuća efikasnost u suzbijanju komaraca ostvaruje samo larvicidnim tretmanima, u Srbiji se to još ne postiže ni prekomernom i rastućom primenom adulticida.

Velika reproduktivna moć, sposobnost migracije i adaptibilnost komaraca, široka mogućnost odabira mesta za razviće, čini borbu protiv ovih insekata veoma teškom. Ogromne vodene površine koje predstavljaju izvorišta velikom broju vrsta komaraca nemoguće je pokriti insekticidima. Izbor metoda suzbijanja komaraca evoluirao je tokom godina. Korišćene su različite strategije suzbijanja ovih insekata sa manje ili više uspeha. Stalno smanjenje efikasnosti primenjenih mera borbe, uslovljeno je takođe relativno brzim formiranjem rezistentnosti na najčešće korišćene grupe hemijskih jedinjenja.

Koncept integralnog suzbijanja komaraca (IMC) bazira se na integralnom suzbijanju štetočina (IPM) i predstavlja uravnoteženo korišćenje fizičkih, bioloških i hemijskih mera borbe, kao i uvođenje novih proizvoda i tehnika aplikacije, u cilju smanjenja negativnih uticaja na prirodnu sredinu. Međutim, i pored mera koje se koriste u borbi protiv različitih stadijuma razvoja komaraca, često dolazi do razvoja velikog broja odraslih komaraca.

Najefikasnija mera za kontrolu brojnosti komaraca je aplikacija insekticida koji se primenjuju za kontrolu larvi (larvicidi) i za kontrolu odraslih formi komaraca (adulticidi). Pod larvicidima se podrazumeva grupa hemijskih ili bioloških jedinjenja koji deluju na razvojni stadijum larve.

U evropskim uslovima, u biotopima razvoja larvi komaraca, koji imaju izražen medicinski značaj poput *Culex*, *Aedes* i *Anopheles* pristup suzbijanju larvi ovih vektora mora biti od posebnog značaja. Strategije programa kontrole i suzbijanja komaraca bi u budućnosti, trebalo da se baziraju na preparatima koji obezbeđuju dugotrajnije delovanje u vodenoj sredini i omogućavaju smanjenje broja tretmana. Veliki broj slučajeva pojave virusa Zapadnog Nila (WNV) u našem regionu, ukazuje na neophodnost kvalitetnijeg i efikasnijeg načina suzbijanja komaraca iz roda *Culex*, pogotovo na nedostupnim mestima razvoja urbanih komaraca, na kojima se

najčešće nalazi vrsta *Culex pipiens pipiens* biotip *molestus* (Petrović i sar, 2015). Primenom navedenih strategija značajno bi se smanjio vektorski i molestantski potencijal komaraca kako iz navedenog roda tako i iz drugih rodova našeg podneblja.

### 1.3. Monitoring komaraca

Monitoring komaraca je na prvi pogled relativno skup, jer zahteva veliki broj radnih časova, tako da nadežni u opštinama/gradovima, preokupirani postojećim ekonomskim, zdravstvenim i socijalnim problemima obično nisu zainteresovani da finansiraju ovakva istraživanja komaraca na svojoj teritoriji, iako su ona jedini način da se postigne efikasna i održiva zaštita u dužem vremenskom periodu. Suzbijanje komaraca mora biti prilagođeno, pre svega, karakteristikama prisutnih vrsta i tipova staništa koje naseljavaju u različitim stadijumima razvoja. Programi monitoringa, koncipirani na naučnim saznanjima, u nekim slučajevima mogu da donesu uštede višestruko veće od uloženi sredstava, već u toku samo jedne akcije suzbijanja. Detaljno kartiranje izvorišta larvi smanjuje inicijalnu vodenu površinu na kojoj su se primenjivali larvicidi za 70-90%, a rezultati praćenja brojnosti i sastava vrsta odraslih pre tretmana može poslužiti da se planirani tretman iz vazduha zameni daleko jeftinijim tretmanom sa zemlje itd.

#### 1.3.1. Monitoring larvi

Osnova svakog uspešnog suzbijanja komaraca zasnovana je na preventivnom delovanju na mestima nastanka i života larvi. Larve komaraca nalažene su u najrazličitijim biotopima voda: manjim ili većim, stajaćim ili tekućim, zagađenim ili čistim, uz obale potoka, reka, kanala, močvara i jezera; septičkim jamama, drenažnim kanalima i starim automobilskim gumama. Njihovo prisustvo takođe se registruje u veoma malim recipijentima vode kao što su otvori u stablima, odbačene konzerve, vazama za cveće. Lisni rukavci u kojima se zadržava voda takođe predstavljaju pogodnu sredinu za rast i razvoj larvi komaraca.

Monitoring larvi se radi uz pomoć standardnih dipera na mestima koja se po svojim biotičkim i abiotičkim karakteristikama označavaju kao potencijalne izvorišne zone. Kreiraju se potencijalni kontrolni punktovi koji se

nalaze neposredno uz priobalni deo, bilo da su u pitanju plavni delovi uz reke ili kanalska mreža, uzima se određeni broj uzoraka pomoću dipera.

Diper je plastična posuda sa drvenom ili plastičnom drškom, prema WHO proceduri namenjena za sakupljanje larvi komaraca. Veličina i zapremina dipera su standardizovani. Standardni diper je prečnika 11x5,5 cm i zapremine 350 ml sa graduisanom stranicom. Bela boja dipera omogućuje kontrast u odnosu na vodu i na taj način olakšava brojanje larvi (Slika 1, 2). Novije varijante dipera izrađuju se sa teleskopskim drškama što omogućuje uzimanje uzoraka sa nepristupačnih terena.

Zbog neravnomerne distribucije larvi postoji mogućnost uzimanja uzoraka koji su bili negativni (tj. u zapremini dipera nije utvrđeno prisustvo larvi), tako da se posmatranjem koje se bazira samo na prosečnim vrednostima može potceniti produktivnost izvorišta. Zbog toga je neophodno uzeti što veći broj uzoraka sa jednog kontrolnog punkta i kao referentnu vrednost koristiti uzorak sa najvećim brojem larvi u 350 ml vode (zapremina dipera). Kontinuirani monitoring larvi komaraca obezbeđuje podatke o veličini izvorišta, odnosno sezonske pojave i gustine populacije ispitivanih vrsta komaraca.

Larve sakupljene pomoću dipera prebaciti u čistu posudu, nakon čega se u istu dodaje etanol. Nakon dodatka etanola larve počinju da plutaju po površini i tada se uklanja sva voda iz posude. Voda izvučena iz posude se zamenjuje sa 70-80% rastvorom etanola. Posle pet minuta larve se prenose u bočicu sa 70-80% rastvorom etanola kako bi se eliminisao sav vazduh bočica se čvrsto zatvara. U jednoj bočici se čuvaju larve koje su iste vrste i koje su istovremeno uzorkovane. U bočice ne treba stavljati više od 20 larvi kako voda sadržana u telima larvi ne bi dovela do razblaženja etanola i ugrozila čuvanje larvi.



*Slika 1. Standardni diper korišćen za sakupljanje larvi komaraca*



*Slika 2. Uzimanje uzoraka pomoću dipera*

Nakon apliciranog larvicidnog tretmana obavezno je kontrolisati brojnost larvi na istim kontrolnim punktovima kako bi se ocenila efikasnost izvedenog tretmana.

Postoji nekoliko tehnika sakupljanja larvi komaraca u zavisnosti od vrste i biotopa u kome žive (Tabela 2).

Tabela 2: Tehnike sakupljanja komaraca u zavisnosti od vrste i biotopa u kome žive

Način potapanja dipera	ROD komaraca	Opis tehnike	Napomene
Plitko ispod površine vode	<i>Anopheles</i>	Rub dipera se potapa u vodu pod uglom od 45° i do 2 cm ispod površine vode. Diper se potapa paralelno sa površinom vode i ispunjava do maksimalne zapremine.	Tehnika prilagođenja sakupljanju larvi komaraca vrste <i>Anopheles</i> , jer larve ovih vrsta ostaju na površini relativno duže od drugih vrsta nakon potapanja dipera.
Potpuno potapanje dipera	<i>Aedes</i> , <i>Ochlerotatus</i> , <i>Culex</i> , <i>Culiseta</i>	Diper se brzo potapa celom zapreminom, a zatim diže prema površini vode. Uznemirene larve reaguju spuštanjem u doblju vodu odnosno u diper koji se nalazi ispod njih.	Ova tehnika se primarno koristi za uzorkovanje komaraca čije larve brzo reaguju na ulazak dipera u vodu.
Ulivanje vode kroz diper	<i>Aedes</i> , <i>Ochlerotatus</i> , <i>Culex</i>	Ova tehnika se koristi u vodenim recipijentima koji imaju manju dubinu od visine/ zapremine dipera. Dno dipera se potopi i voda sa larvama se uliva u diper.	Tehnika za plitke vodena staništa.
Potapanje dipera	<i>Culex</i>	Brzim pokretom zgloba ruke, diper se potapa ispod površine vode. Tehnika slična uzimanju vode za piće.	Tehnika se koristi kada je brojnost larvi nekoliko stotina puta veća od kritične.
Potapanje dipera ispod izabranog mesta uzorkovanja	<i>Aedes</i> , <i>Ochlerotatus</i>	Diper služi kao bela pozadina na kojoj se jasno vide larve komaraca. Nakon utvrđivanja prisustva larvi diper se vuče prema površini.	Tehnika koja se koristi prilikom sakupljanja larvi komaraca u izvorštima koja su obrasla vegetacijom.

### 1.3.2. Monitoring odraslih komaraca

Kontinuirano praćenje pojave i brojnosti odraslih predstavlja osnovu svakog racionalnog programa suzbijanja komaraca. Ovom metodom sakupljaju su komarci iz neposredne blizine klopke (kontrolnog punkta) premda bi dobijeni podaci trebalo da predstavljaju populaciju komaraca sa mnogo većeg područija. Zbog toga smo u okviru svakog lokaliteta pažljivo odabrali reprezentativne kontrolne punktove. Vetar kao veoma promenljiv ekološki faktor, u uslovima našeg klimata ima preovlađujuće inhibitorno delovanje na let komaraca i zbog toga su klopke postavljane na mesta koja su sa svih strana podjednako zaštićena od vazдушnih strujanja.

Postoje različiti načini sakupljanja odraslih formi komaraca koji se značajno razlikuju u efikasnosti, a takođe i u količini podataka koje obezbeđuju o inicijalno sakupljenoj populaciji. Odrasle ženke komaraca se mogu sakupljati aspiracijom na mestima odmora (u skloništima ili na otvorenom u vegetaciji) ili na domaćinima (čovek ili životinje) odnosno u vegetaciji pomoću mreža za sakupljanje.

Broj komaraca koji slete na čoveka (Human landing collection, HLC) služi za procenu brojnosti komaraca koji slete na čoveka u periodu od 15 minuta. Naveća prednost ove metode i njena brzina mogućnosti istovremene provere brojnosti komaraca na mestima gde se proverava broj larvi. Ova metoda se može koristiti samo ako ne postoji rizik od potencijalnog prenosa oboljenja. Kao alternativa se nameću klopke koje mogu da koriste različite atraktante.

Prva proučavanja načina privlačenja komaraca, izučavala su dejstvo pojedinih faktora poput svetlosti, boje, vlažnosti i ugljen-dioksida. Kao nezamenjiv atraktant u prvim istraživanjima spominje se svetlost. Nasuprot ovim istraživanjima godine utvrdio da je kontrolisani let insekata moguć zahvaljujući svetlosti reflektovanoj od strane objekta u prirodi, a nikako svetlosti emitovanoj od nekog svetlosnog izvora. Smatra se da hvatanje komaraca u svetlosnim klopka se zasniva na narušavanju normalnog ponašanja jedinke jer je u pitanju dezorijentisani let, jer komarci nemaju evolutivno iskustvo sa veštačkim svetlom.

Povećanjem interesovanja za kontrolu i suzbijanje komaraca uporedo sa razvojem klopki vršena su i proučavanja različitih atraktanata. Do sada najzastupljeniji atraktanti koji još uvek nalaze svoju primenu su ugljen-dioksid, oktanol i mlečna kiselina (Jeličić Marinković i sar., 2014). Efikasnost klopki i veličina uhvaćenog broja komaraca zavisi od različitih faktora: prisutne populacije komaraca, vremenskih uslova, konfiguracije terena, mesta postavljana i same konstrukcije klopki. Smatra se da svi ovi faktori imaju velikog uticaja na veličinu uzoraka i često onemogućavaju da se dobijeni podaci međusobno porede.

### 1.3.3. Metode za sakupljanje odraslih komaraca

Mogućnost istraživanja brojnosti, diverziteta kao i kontrola rezultata preduzetih mera suzbijanja u najvećoj meri zavisi od načina na koji se komarci mogu privući u dovoljnom broju. Tokom evolucije komarci su razvili čitav sistem ponašanja prilikom traženja domaćina za uzimanje krvnog obroka. Primarni stimulusi na osnovu kojih ženka bira svog domaćina mogu se podeliti u grupu olfaktornih, vizuelnih i u grupu termalnih stimulusa. Jedan od najpoznatijih olfaktornih stimulusa je ugljen dioksid. Dobro je poznato da je koncentracija ugljen dioksida u vazduhu 0,03%, a u vazduhu koji čovek izdahne je i do 10 puta veća. Upravo ta razlika u koncentraciji opredeljuje ženku u traganju za krvnim obrokom.

#### a) HLC metod

Najstariji i najjednostavniji način sakupljanja ženki odraslih komaraca. U slučaju da postoji rizik od infekcije preporučljivo je sakupiti ženke pre nego što dođe do uboda. Za standardna poređenja preporučuje se trajanje uzorkovanja od 15 minuta. Hvatanje komaraca koji dolaze da se hrane na čoveku u toku određenog vremenskog perioda predstavlja metodu koja se upotrebljava za praćenje promena u populaciji komaraca duži niz godina. Pristupačnost domaćinu u velikoj meri utiče na brojnost uhvaćenih vrsta. Hvatanje na čoveku može prilično varirati na malim distancama u okviru jednog biotopa, a nekad se i sastav vrsta između dva mesta koja su veoma blizu može razlikovati (Service, 1969).

#### b) Klopke koje kao mamac koriste životinje

Različite vrste komaraca preferiraju i različite domaćine. Pojedine vrste komaraca različito reaguju na različite stimulse koji dolaze iz spoljašnje sredine. Upravo ti stimulusi koji utiču na ženke tokom apetitativnog odnosno konzumatorskog leta opredeljuju komarca ka izboru domaćina na kome će se hraniti. Ženke vrsta *Aedes/Ochlerotatus* prilikom izbora domaćina za uzimanje krvnog obroka preferiraju čoveka, odnosno pokazuju izrazitu antropofilnost. Najveći broj jedinki ovih vrsta sakupljen je do visine od 2 metra. Komarci roda *Cx. pipiens* pokazuju izrazitu ornitofilnost. Izrazita brojnost ovog roda zabeležena je na visina između 4 i 45 metara

(Service, 1969). Vrste roda *Anopheles* sakupljane su na visina do 2 metra, a najveći broj jedinki hvatan je u štalamama i stajama što ukazuje na zoofilni preferendum ove vrste. Zbog svega navedenog životinjski mamci mogu da budu različite domaće i divlje životinje. Komarci se pomoću aspiratora uklanjaju sa eksponirane životinje. Životinjski mamci se u velikoj meri koriste u studijama u kojima se utvrđuje prisustvo različitih patogena koje komarci prenose. Na mestima na kojima se odrasle ženke odmaraju i vegetaciji komarci se sakupljaju pomoću aspiratora.

### c) Klopke sa ugljen-dioksidom kao atraktantom

Najrašireniju primenu i najbolje rezultate dale su klopke u kojima se kao atraktant koristi ugljen-dioksid. Velika prednost koja se postiže korišćenjem ugljen-dioksida kao atraktanta, u poređenju sa hvatanjem komaraca na čoveku (HBC metoda) je mogućnost hvatanja i onih vrsta koje čovek ne privlači. Kao atraktant, u klopki se koristi ugljen-dioksid u obliku suvog leda. Suvi led spada u grupu hemijskih kairomona. Telo klopke čini cilindar od plastike čiji je unutrašnji prečnik 12 cm (Slika 3). Na gornjem delu cilindra nalazi se elektromotor pokretan baterijama jačine 3x1.2 V i kapaciteta 4500 mAh. Donja osovina elektromotora završava se sa propelerom sa lopaticama ukupnog raspona 11 cm. Lopatice propelera ukošene su u odnosu na osovinu pod uglom od 45°. Ovaj ventilator ima funkciju da kroz plastični cilindar usisava komarce koji lete u blizini otvora klopke i deponuje ih u mrežu zavezanu na donjem delu klopke. Iznad klopke se nalazi plastični kontejner u koji je stavljan suvi led. Kontejner ukupne debljine 8 mm napravljen je od plastične mase koja je iznutra izolovana sa stiroporom, da bi se smanjili gubici nastali sublimacijom suvog leda. Sa strane pri dnu kontejnera nalaze se četiri perforacije za ispuštanje ugljen-dioksida sa plastičnom ili gumenom izolacijom da bi sprečila mogućnost zamrzavanja otvora pri visokim vlažnostima vazduha. Svaka klopka na kontejneru za suvi led imala je uzicu pomoću koje se postavljala na određeno mesto i visinu. Izlazni otvori za CO<sub>2</sub> nalazili su se uvek na istoj visini od 1.5 m od površine zemlje.

Pre prestanka rada klopki usledilo je skidanje mrežice sa uhvaćenim komarcima. Skinute mrežice sa uhvaćenim komarcima odlagane su u suvi led radi zamrzavanja i lakšeg transporta a zatim je u laboratoriji vršena determinacija do nivoa vrste. Mogućnost istraživanja brojnosti, diverziteta kao i kontrola rezultata preduzetih mera suzbijanja u najvećoj meri zavisi od načina na koji se komarci mogu privući u dovoljnom



broju. Za utvrđivanje brojnosti i distribucije adultnih formi komaraca u najvećem broju programa monitoringa i istraživanja odraslih komaraca korišćena je CDC klopka (C carbon, D dioksid) (Slika 3).



*Slika 3. CDC klopka*



*Slika 4. Mosquito magnet trap*

#### d) Mosquito magnet traps - MM klopke

Kao atraktant u ovim klopkama se takođe koristi CO<sub>2</sub>, ali ne u obliku suvog leda već ugljen dioksid nastaje sagorevanjem butana. Pored CO<sub>2</sub> u ove klopke kao atraktanti se dodaju i mlečna kiselina, odnosno oktenol. Pomoću ovih klopki se obezbeđuje nespecifičan uzorak, klopke ovog tipa mogu da sakupljaju više različitih insekatskih vrsta. Najveći problem ovih klopki su njihove dimenzije, jer u velikoj meri njihova veličina otežava manipulaciju i rad (Slika 4).

### e) Svetlosne klopke

Upotreba veštačke svetlosti kao atraktanta za sakupljanje nokturalnih insekata zabeležena je početkom prošlog veka. Može se reći da su pra-počeci ovog metoda bili kerozinska lampa, a kasnije i obična sijalica. Prva svetlosna klopka napravljena je 1927. godine u eksperimentalnoj poljoprorivrednoj stanici u Nju Džerziju. Klopka se sastoji od izvora svetlosti-sijalice, kombinovanog sa ventilatorom i posudom za sakupljanje. Prisustvo mrežice preko usisnog otvora isključuje mogućnost ulaska noćnih leptira i krupnih insekata, dok su sitni uvučeni u posudu gde se nalazi kalijum-cijanid (Slika 5). Faktori koji utiču na sakupljanje odraslih formi komaraca su jačina, talasna dužina odnosno intenzitet svetlosti i snaga ventilatora. Istraživanja su pokazala su da klopka ima istu efikasnost skupljanja komaraca u periodu sumrak-svitanje, slično kao i čovek tokom petnaestominutne ekspozicije. Koriste se za sakupljanje komaraca koji su prenosioci malarije, a najveći problem je što pored komaraca sakupljaju i druge insekatske vrste. U prošlosti su se koristile u kombinaciji sa ugljen-dioksidom kao atraktantom.



*Slika 5. Svetlosna klopka*



*Slika 6. BG sentinel klopka*

#### f) BG sentinel klopke

Dizajnirane za sakupljanje roda *Aedes*, sa posebnim akcentom na invazivne vrste. Postoje posebni kitovi koji se ubacuju u klopku, a koji sadrže različite stimuluse koji privlače odrasle komarce (Slika 6). Postoji mogućnost ubacivanja CO<sub>2</sub> i glodara u kavezima, kako bi se privukao što veći spektar i broj različitih vrsta komaraca sa područja na kojem se vrši monitoring. Klopka se može koristiti u ruralnim i urbanim uslovima, a pomoću iste se mogu sakupljati mužjaci, ženke koje su uzele krvni obrok, kao i gravidne ženke. Najveći problem ovih klopki su njihove dimenzije, što u velikoj meri otežava manipulaciju i rad sa njima.

#### g) Klopke za sakupljanje gravidnih ženki

Ove klopke su dizajnirane da imitiraju mesto koje će ženke iskoristiti za polaganje jaja. U najvećem broju slučajeva gravidnu klopku čini posuda crne boje u kojoj se nalazi tečnost sa odstajalom vodom. Klopke za sakupljanje gravidnih ženki koriste se u programima kontrole različitih arbovirusa, jer su gravidne ženke „bolji“ indikatori prisustva virusa u odnosu na ženke koje traže krvni obrok. Gravidne klopke su izuzetno atraktivne za vrste roda *Aedes*.

#### h) Lepljive klopke za komarce

Kao i klopke za sakupljanje gravidnih ženki, lepljive klopke za komarce koriste se za sakupljanje gravidnih ženki koje jaja polažu na utrašnje delove ovih klopke. Kao atraktant se koristi voda sa različitim rastvorenim organskim materijama, a unutrašnjost je oblepljena lepljivim materijalima. Kada se koriste, u velikom broju mogu se iskoristiti za značajnu redukciju broja odraslih komaraca. Smatra se da su pogodne za sakupljanje „kontejnerskih“ vrsta komaraca.

#### i) Kutije za odmaranje komaraca

Veliki broj različitih vrsta komaraca ima krepuskularnu aktivnost. Komarci preko dana odmaraju na mestima koja nisu direktno izložena sunčevoj svetlosti. Sve navedeno ukazuje da je komarce efikasno skupljati tokom

perioda njihove neaktivnosti. Ovakav način sakupljanja komaraca se koristio za sakupljanje i utvrđivanje brojnosti komaraca koji prenose malariju. Klopka je sastavljena iz kutije dimenzija 1 m<sup>3</sup> sa otvorom na jednom kraju. Unutrašnjost kutije mora biti crvene ili braon boje.

#### j) Ovi traps – klopke za polaganje jaja komaraca

Vrlo su jednostavne i koriste se za sakupljanje nekih vrsta roda *Aedes*. Sastoje se od crne plastične kante/posude koja je napunjena vodom do 1/2 ili 1/3, otvorom kroz koji se eliminiše višak vode i komadom plastike ili drveta na koju će komarac poleći jaja. Veličina posude mora biti prilagođena planiranom broju kontrola u vremenskom intervalu i meteo uslova, iz razloga da klopke ne ostanu suve. Prednost ovih klopki je jednostavnost, ali problem nastaje prilikom determinacije jaja i uspostavljanja korelacije između broja položenih jaja i prisustva odraslih ženki. Odrasle ženke ne polažu sva jaja samo na jednoj lokaliji.

Efikasnost klopki i veličina uhvaćenog broja komaraca zavisi od različitih faktora: prisutne populacije komaraca, vremenskih uslova, konfiguracije terena, mesta postavljana i same konstrukcije klopki. Smatra se da svi ovi faktori imaju velikog uticaja na veličinu uzoraka i često onemogućavaju da se dobijeni podaci međusobno porede. Brojnost komaraca koja se registruje na čoveku i broj komaraca sakupljenih uz pomoć klopke može se smatrati jednakim ako je odnos 1:4.8 (Petrić i sar., 1986). Ovaj odnos je ustanovljen na osnovu dužine trajanja hvatanja komaraca na čoveku i uz pomoć klopke (5 min : 24 sata). Istim istraživanjem zabeleženo je da vrste *Cx. pipens*, *Culiseta annulata*, *Cx. modestus*, *An. claviger*, *Ae. caspius*, *Coquillettidia richiardii*, *Ae. vexans*, *Ae. cinereus* i *Ae. dorsalis* pokazuju značajan preferendum prema klopka sa suvim ledom u odnosu na čoveka. Odnos brojnosti komaraca sakupljenih na čoveku i uhvaćenih uz pomoć CDC klopki kretao se od 1:467 kod vrste *Cx. pipens* pa do 1:7 kod vrste *Ae. dorsalis*. Paralelno sa ovim istraživanjem urađena je i anketa stanovništva o prisutnosti, odnosno uznemiravanju od strane komaraca. Ispitanici sa više kontrolnih punktova obaveštavali su istraživače o broju i prisutnosti (uznemiravanju) komaraca. Analizom dobijenih podataka uz pomoć ankete, brojnosti komaraca u klopka odnosno na osnovu hvatanja na čoveku i iskustvima zemalja sa sličnim problemom utvrđena je kritična brojnost komaraca različitih vrsta. Za vrste roda *Culex* taj broj se kreće do 150 komaraca u klopki za noć. Kritična brojnost komaraca roda *Aedes/Ochlerotatus* je 20 u klopki za noć. Vrednosti kritične brojnosti komaraca u klopki za noć predstavlja najvažniji parametar u određivanju vremena aplikacije insekticida a isto tako i u ocenjivanju njegove uspešnosti.

Tabela 3: Najčešće korišćene klopke za sakupljanje odraslih komaraca

Model klopke	Korišćeni atraktant	Privučeni komaraca	Vrste komaraca	Prednosti	Mane	Primedbe
<b>BG Sentinel</b>	Mamci sa mirisima kože čoveka, slatkasti miris ili CO <sub>2</sub> (opciono)	Ženke koje traže domaćina	Sa mamcima <i>Ae. aegypti</i> , <i>Ae. albopictus</i> sa CO <sub>2</sub> sve vrste koje su mamofilne	Mamci veoma efikasani	Veličina, mogućnost oštećenja, potreban izvor napajanja	
<b>CDC klopke</b>	Ugljen dioksid	Ženke koje traže domaćina	Sve mamofilne vrste	Lake, jednostavne za rad	Neophodan izvor napajanja i CO <sub>2</sub>	Ako se koriste sa svetlom sakupljaju i druge insekatske vrste
<b>Mosquito magnet</b>	Mamak sa mirisom (oktenol), CO <sub>2</sub> nastaje sagorevanjem butana	Ženke koje traže domaćina	Sve mamofilne vrste	Duži vremeski period	Teške, velike i skupe	Veliki troškovi korišćenja
<b>Klopke za sakupljanje gravidnih ženki</b>	Voda u kojoj se nalazi trava ili seno	Ženke koje traže mesto za polaganje jaja	Vrste roda <i>Culex</i>	Koriste sa za sakupljanje komaraca u kojima se očekuje prisustvo virusa (uhvaćene ženke su imale najmanje jedan krvni obrok)	Limitirane na sakupljanje komaraca neposredno oko klopke	
<b>Lepljive klopke</b>	Voda u kojoj se nalazi poseban rastvor	Ženke koje traže mesto za polaganje jaja	Neke vrste roda <i>Aedes</i>	Lake za rukovanje	Mala brojnost uhvaćenih komaraca koja su obrasla vegetacijom	Rukovanje sa lepljivim materijama

## 2. PREDIKCIJSKI MODELI U PROGRAMIMA KONTROLE I SUZBIJANJA KOMARACA

Komarci, i bolesti koje prenose, predstavljaju rastuću pretnju po građane regiona, tako da je naučno zasnovano sakupljanje relevantnih podataka, kao i podizanje nivoa znanja i informisanosti korisnika usluga, od presudnog značaja za razumevanje stepena rizika i mera suzbijanja koje treba preduzeti.

Ovo se naravno odnosi i na domaće vrste koje uznemiravanjem i ubodima remete normalne životne aktivnosti stanovništva, a neke su osnovni vektori opisanih bolesti koje se šire Evropom. U poslednjih nekoliko decenija kontakti ljudi i komaraca su postali sve češći i intenzivniji, zbog širenja naselja ili migracije dela stanovništva u predhodno netaknute delove prirode, koja po svojoj prirodi pružaju veći broj i više različitih tipova izvorišta larvi nego visoko urbanizovane sredine. Pored toga, urbane zone su izložene dodatno pojavi kontejnerskih komaraca, koji za razliku od većine domaćih vrsta napadaju čoveka i tokom dana.

Veoma je teško prognozirati vreme i intenzitet pojave transmisivnih bolesti. Azijski tigrasti komarac se uspešno razmnožavao i širio po Albaniji i Italiji 30 godina, odnosno 17 godina pre nego što je došlo do epidemije prve bolesti koju on prenosi. Nasuprot tome, u Francuskoj su se autohtoni slučajevi čikungunje i denge groznice pojavili svega četiri godine posle unošenja ove vrste. Ovo ukazuje na to da se promene faktora koji omogućavaju prenošenje bolesti se sve češće dešavaju, što pre svega pospešuje mogućnost unošenja patogena, povećava vektorski kapacitet unetih i domaćih komaraca i kontakt između vektora i domaćina. Klimatske promene nemaju direktan uticaj samo na patogene, već i na povećanje brojnosti komaraca vektora, njihovu aktivnost (agresivnost) i preživljavanje.

U prisustvu lokalnih izvora infekcije i pogodnih klimatskih uslova, verovatnoća da vektor prenese patogene raste sa brojnošću vektora. Međutim, prenošenje može biti moguće i ako je gustina populacija vektora niska ili umerena, u slučaju kada prisutna vrsta komaraca ima visok kapacitet (sposobnost) prenošenja (% zaraženih ženki). Strateško opredeljenje za pristup suzbijanja komaraca u regionu je neophodno za postizanje zadovoljavajućeg stepena zaštite od komaraca i bolesti koje prenose. Ono je zasnovano na obezbeđenju mogućnosti za razlikovanje produktivnih od neproduktivnih izvorišta larvi, koje će za posledicu imati smanjenje obima tretiranja odraslih komaraca, što će direktno uticati na ostvarenje ušteda i sprečavanje neželjenog uticaja na životnu sredinu. Preduslovi za primenu efikasnog suzbijanja komaraca su: integralni pristup suzbijanju komaraca i izrada funkcionalnog modela izvorišta za suzbijanje larvi komaraca, koji će omogućiti simulaciju

plavljenja i biti povezan sa bazom podataka o produktivnosti izvorišta.

Integralni pristup kao premisu ima poznavanje lokalnog eko-sistema i uvođenje monitoringa u funkciju donošenja odluka o neophodnim aktivnostima. Za realizaciju, neophodna je informisanost svih aktera koji učestvuju u odlučivanju i opredeljivanju sredstava, ekspertiza aktera za izbor i evaluaciju metoda, kao i obučenost za implementaciju opredeljenih metoda. Integracija svih mera ima za cilj optimizaciju u postizanju efekata tretmana, uz finansijski racionalno i ekološki prihvatljivo rešenje za lokalnu situaciju. Cilj integralnog suzbijanja je transformacija načina na koji se komarci suzbijaju u cilju postizanja višeg nivoa efikasnosti ekološke prihvatljivosti i održivosti. Na osnovu svih iskustava, transformacija u IMM po pravilu ima rezultat smanjenje troškova, ekološku opravdanost i održivost.

U pristupu izbora metoda za suzbijanje komaraca, osnovno opredeljenje treba da bude u odnosu na vrste komaraca koji zahtevaju tretmane. Podela komaraca u četiri grupe sem osnovnih bioloških i ekoloških karakteristika koje služe za njihovo diferenciranje, takođe ima i funkcionalni/praktični značaj, jer opredeljuje izbor metoda za njihovo suzbijanje. Najveći broj produktivnih izvorišta larvi nalazi se u zoni rečnih tokova. Komarci koji se razvijaju u ovim staništima po pravilu nisu od medicinskog i veterinarskog značaja, kao prenosioци uzročnika bolesti, ali svojom brojnošću ugrožavaju aktivnost stanovništva na otvorenom prostoru. Zaštita životinja posebno u nacionalnim parkovima je ne manje značajna, jer se prirodna staništa odraslih formi komaraca nalaze u šumskom pojasu u kojima su životinje izvor krvnog obroka.

Zašto u uslovima našeg podneblja tretmani larvi komaraca treba da budu dominirajući način suzbijanja komaraca? U stadijumu larve komarci su slabije mobilni i ograničeni na manje površine, tako da je koncentracija individua veća nego u sličuju odraslih jedinki. Dodatno, izbor metoda suzbijanja juvenilnih stadijuma razvoja (jaja, larva, lutka) može da bude različit i po pravilu nudi veći izbor mera u zavisnosti od tipa izvorišta. U sklopu opredeljenja trajnih mera koje pripadaju prostornom planiranju, uređenju vodotokova i obezbeđenju protočnosti kanalske mreže, strateški posmatrano, visoka inicijalna ulaganja u ovakav tip menadžmenta voda daju dugoročne efekte, jer se eliminišu ili značajno smanjuju izvorišta larvi komaraca.

Izbor metoda suzbijanja juvenilnih stadijuma razvoja komaraca može biti mehanički, biološki, fizički i hemijski. Najobuhvatniji pristup je kombinacija ili komplementarno delovanje svakog od ovih metoda u sklopu integralnog načina suzbijanja komaraca. Mehanički metod podrazumeva eliminaciju mesta (kontejnera sa vodom, pražnjenje, prosipanje vode iz manjih recipijenata koji zadržavaju vodu) u kojima žive larve. Ovaj metod

je najefikasniji, najjeftiniji, najdelotvorniji i najbezbedniji, a moguće ga je sprovesti jedino sa aktivnim učešćem stanovništva, i vezan je za urbana i periferna naselja. Biološki metod podrazumeva primenu bioloških agenasa, te predstavlja efikasno i ekološki prihvatljivo rešenje. Aplikacija bioloških agenasa treba da bude usmerena na staništa komaraca otvorenih sistema voda. Fizički metod podrazumeva bio-razgradive materijale i zračenje za fizičko suzbijanje komaraca, najčešće za suzbijanje vektorskih vrsta. Hemijski metod uključuje primenu biocida sa larvicidnim delovanjem koji se primenjuju u izvorštima larvi komaraca, odnosno primenu konvencionalnih larvicida ili regulatora rasta insekata (IGRs), koji utiču na sprečavanje razvića larvi do odrasle forme komaraca. Konvencionalni larvicidi i regulatori rasta primenjuju se u zatvorenim izolovanim sistemima koji su bogati (za- gađeni) organskom i drugim materijama, kanalskoj mreži odnosno šahtovima i manjim recipijentima vode. U hemijski metod uključena je i primena adulticida za suzbijanje odraslih formi komaraca.

## 2.1. Suzbijanje komaraca u rečnim slivovima

Da bi se metoda suzbijanja larvi u plavljenim zonama precizno i efiksano izvodila potrebno je izraditi funkcionalni model plavnih terena. Bez modela, osnov za pravljenje potencijalnih izvorišnih površina zasnovan je na izračunatim površinama za svaku površinu pri plavljenju reka i aproksimaciji površine za koju se očekuje da bude definisana kao potencijalno plavljena zona za tretman tokom sezone. Ovo podrazumeva da je broj plavljenja tokom jedne sezone različit i varira od 0-6. Podaci za reku Dunav kod Novog Sada mogu se ilustrovati vodostajem kod Novog Sada u periodu od 2000-2016. godine. Kritičan nivo sa aspekta plavljenja i aktivacije položenih jaja komaraca je vodostaj od 280 cm. Ako je ovo polazna osnova, odnosno uzrok koji za posledicu ima formiranje nove generacije svaki put kada se Dunav pri vodostaju iznad 280 cm izlije u različitom stepenu, tada se iz grafikona koji se navode jasno vidi da precizno planiranje obima mera suzbijanja za svaku godinu je teško utvrditi, jer zavisi od hidroloških prilika koje je praktično nemoguće predvideti.

Sve ekstremne godine su nepredvidive. Naročito one koje se ne uklapaju u višegodišnje proseke, a hidrorežimom mogu da naprave značajne materijalne štete i dodatno ugroze javno zdravlje. Na osnovu analiziranih podataka može se zaključiti da najveći broj intervencija u suzbijanju rečnih komaraca je potrebno sprovesti u toku prvog dela sezone. Favorizacija ovakvog stava proizilazi ne samo zbog hidro režima reka, nego



i okolnošću da se suzbijanjem generacija u prvom delu sezone smanjuje biološki potencijal za dalje polaganje jaja. Dodatno, zbog okolnosti da rečni komarci imaju sposobnost migriranja na velike razdaljine, tretmanima prolećnih generacija treba sprečiti infestaciju naseljenih mesta/gradova.

Treba naglasiti da se procena plavnih zona bazira na maksimalnoj površini od obala reka do nasipa, koja može da bude plavljena pri visokim vodostajima reka. U dokumentacijama koje postoje u topografskim mapama, koje nisu ažurirane duži niz godina, ne može se doći do novijih podataka koji bi reflektovali sliku promena terena koja se u međuvremenu desila privođenjem dela porečija drugih namera, što ponovo naglašava neophodnost formiranja digitalnih karata i formiranje funkcionalnih površina u kojima se razvijaju larve.

Za predviđanje potreba suzbijanja rečnih komaraca u aktivnim izvorštima, na osnovu analiza parametara vezanih za hidro režim reka smatra se realnim da je potrebno planirati tri larvicidna tretmana. Poslednjih godina prošlog veka, u programima kontrole i suzbijanja komaraca sve više su zastupljeni sistemi kartiranja terena. Detaljne i precizne mape čine osnovu svakog programa za kontrolu i suzbijanje komaraca. Uz pomoć ovakvih mapa lociraju se, a zatim i ucrtavaju izvorišna mesta, određuju se površine za tretman, širina radnog zahvata i pokrivenost površine nakon apliciranog tretmana. Pod mapama koje se koriste za ove namene podrazumeva se prostorni avionski snimak sa visine od 2 kilometra sa kompletnom infrastrukturom. Spajanjem dobijenih avio snimaka uz pomoć posebnih kompjuterskih programa dobija se kompletna mapa određene područja. Na mapama se beleže (ucrtavaju) vodeni recipijenti, plavne površine na određenom vodostaju, kontrolni punktovi za utvrđivanje brojnosti larvi, lokaliteti na kojima se sakupljaju odrasle forme komaraca i površine na kojima je izveden larvicidni ili adulticidni tretman. Markiranjem punktova na terenu, pomoću GPS uređaja zamenjeno je ručno ucrtavanje u karte na osnovu vizuelnih orijentira.

Paralelno sa mapiranjem izvorišnih zona izvršila bi se:

- procena diverziteta i gustine vrsta komaraca;
- klasifikacija izvorišnih zona prema produktivnosti različitih formi komaraca;
- ocena ekoloških uslova koji vladaju izvorišnim zonama.

Dobijeni podaci sa terena unose se u računarski sistem sposoban za integrisanje, skladištenje, uređivanje, analizu i prikaz geografskih informacija.

Geografski Informacioni Sistem (GIS) se sastoji od četiri interaktivne komponente:

- podsistem za unos koji vrši konverziju karata (mapa) i drugih prostornih podataka u digitalni oblik (vrši se

- tzv. digitalizacija podataka),
- podsistem za skladištenje i pozivanje podataka,
  - podsistem za analizu,
  - izlazni podsistem za izradu karata, tabela i za pružanje odgovora na postavljene upite.

Kao što je već navedeno, određivanje zona plavljenja na osnovu modela terena radi se upotrebom GIS aplikacije. Model terena se uvodi GIS kao raster, zatim se vrši odabir koordinatnog referentnog sistema, a po potrebi se može uvesti veb-mapa prostornog okruženja. Za potrebe određivanja zone niže od određene vrednosti nadmorske visine koristi se Raster kalkulator kojim se vrši odabir željenog interval nadmorskih visina, koji se nakon selekcije čuvaju kao posebni raster. Oni se konvertuju u vektorski format. Tako se formira vektorski sloj koji pokazuje poligone i iz koga se sortiraju vrednosti i vrši odabir onih koje prikazuju samo plavne zone. Moguće je uraditi transparentciju mape kako bi se dobio pregledniji prikaz nakon čega se dobija krajnji rezultat.



*Slika 7. Plavne površine kod Novog Sada na vodostaju Dunava od 400 cm*



*Slika 8. Plavne površine kod Novog Sada na vodostaju Dunava od 600 cm*

### 3. BIOLOGIJA I DETERMINACIJA KOMARACA

Komarci pripadaju porodici Culicidae (red Diptera, podred Nematocera). Do danas je u svetu registrovano ukupno 3.523 različite vrste u okviru porodice Culicidae (Harbach 2011, Mosquito Taxonomic Inventory, <http://mosquito-taxonomic-inventory.info>), u Evropi je prisutno oko 100, u Hrvatskoj 50, a u Srbiji oko 40 vrsta. Mnogi naučnici, zbog bolesti koje nastaju kao posledica prenošenja patogena, svrstavaju komarce u najopasnije životinje na svetu. Bez obzira na velike napore Svetske zdravstvene organizacije (WHO), još uvek, svake godine, više od 200,000.000 ljudi u svetu oboli, a 600.000 do 1,000.000 umre od malarije (<http://www.who.int>), bolesti koju prenose komarci. Međutim, ne smemo smetnuti s uma da su samo neke vrste vektori (prenosioci) patogena prouzrokovala bolesti, i/ili izvori opasnosti po ljudsko i zdravlje životinja, a znatan broj vrsta su molestanti (uznemirivači). Sem malarije, evropski kontinent se suočava sa novim bolestima koje su ranije bile poznate samo u tropima, ili regionima drugog klimatskog režima. Invazivne vrste koje stižu u Evropu najrazličitijim putevima transporta, relativno lako se adaptiraju na novu sredinu, naseljavaju novi prostor, a po svojim vektorskim kapacitetima mogu da obezbede prenos patogena koji ranije nisu bili prisutni na evropskom kontinentu (Epidemija čikungunje u Italiji 2007. godine).

#### 3.1. Ovipozicija

Otpribližno dva do četiri dana nakon krvnog obroka, ženke polažu između pedeset i petsto jaja. Pri polaganju jaja ženke stoje na vodenoj površini tako da im zadnje noge zauzimaju oblik slova V, a zatim se jaja ispuštaju kroz genitalni otvor. Ovisno o vrsti komaraca jaja se polažu u nakupinama ili pojedinačno (Clements, 1992). Ženke komaraca rod *Aedes* jaja polažu pojedinačno, dok su jaja grupisana u jajna legla u obliku čunića kod vrsta iz roda *Culex*. Jaja komaraca obično su veličine oko 1 mm. Ljuska (*chorion*) jajeta izgrađena je iz dva sloja (vanjskog i unutrašnjeg). Vanjski sloj ljuske je bezbojan dok je unutrašnji sloj bele boje kod ispiljenih jaja, ali će boja tokom nekoliko sati postupno postati tamno smeđa. Dolazi do sklerifikacije jajeta. Donja strana svakog jajeta ima krunicu sa hidrofilnom površinom koja naleže na površinu vode. Unutrašnja površina krunice je hidrofobna, što omogućava održavanje položaja jajeta i njegovo plutanje na površini vode. Parametri uz

pomoću kojih će ženka odabrati mesta za polaganje jaja na vodenu površinu još uvek nisu do kraja poznati za mnoge vrste. Pretpostavlja se da je kvalitet vode, količina svetla, prisutnost dovoljne količine hrane, lokalna vegetacija, prisutnost već položenih jaja komaraca, neki od presudnih faktora za polaganje jaja. Za vrstu *Cx. pipiens* poznato je da velika količina organskog materijala u vodi ima atraktivnu ulogu prilikom polaganja jaja u vodi. Razgradnjom organskog materijala u vodi, dolazi do stvaranja amonijaka, metana i karbon dioksida, koji imaju značajnu ulogu kao atraktanti prilikom ovipozicije vrste *Cx. pipiens*. Ukoliko se jaja ne polažu na površinu vode, supstrat na koji polažu jaja mora biti dovoljno vlažan, jer su ona izuzetno osetljiva na gubitke vode pre stvaranja zaštitnog voštanog sloja serozne kutikule. Jaja položena na površinu vode obično se izlegu odmah nakon polaganja, dok se ona koja nisu položena direktno na vodu pile posle plavljenja. Jaja položena na zemlju/supstrat mogu da miruju godinu dana ili čak nekoliko godina, ako se ne steknu uslovi za njihovo piljenje, odnosno nisu poplavljena. Sposobnost poplavnih vrsta komaraca, u ovom slučaju ženki, da pronađu odgovarajuće mesto za polaganje jaja, koje će osigurati maksimalno piljenje položenih jaja, još uvek nije do kraja poznato. Pretpostavka je da su tokom života prilagođavali svoje ponašanje da bi uspeali prebroditi i prepoznati nezadovoljavajuće uslove mesta za polaganje jaja.

Ukoliko gravine ženke odluče da polažu svoja jaja na mestima sa permanentnim plavljenjem, takva odluka može imati ključne nedostatke, iz razloga jer će pristigla voda vrlo brzo nadolaziti i zadržati se duži vremenski period, te će se na taj način proizvoditi manji broj generacija komaraca, te će larve komaraca sa nadolazom vodom dobiti i prirodne neprijatelje (ribe). Međutim, plavljenja područja sa kratkim zadržavanjem vode, isto tako imaju nedostatke u vidu dužeg vremenskog perioda neplavljenja terena. Takvi tereni/područja postaju plavljeni u kratkom vremenskom periodu u određeno doba godina kada dolazi do stvaranja veće količine vode (proleće-jesen). Ispiljena jaja vrsta roda *Aedes* otporna su na isušivanje i niske temperature. Pretpostavlja se da gravidna ženka ovih vrsta komaraca može prepoznati vlažno, muljevito, glineno zemljište, na osnovu njihovih produkata (feromona u obliku mirisa) koji će atraktivno delovati na ženke i podstaći ih na polaganje jaja (Becker i sar., 2010). Ovipozicijsko ponašanje poplavnih vrsta komaraca pokazuje zavidljivo stepen adaptacije njihovom staništu i njihovom razviću kroz evoluciju.

## 3.2. Embriološki razvoj i piljenje

Embriološki razvoj započinje odmah nakon polaganja jaja. Za pojedine vrste komaraca dužina perioda pre polaganja je različita. Ona ovisi o abiotičkim faktorima, a najviše o temperaturi. U zavisnosti od temperature, može trajati od dva dana pa do nedelju dana ili čak i više, dok ne dođe po potpunog razvoja. Period i trajanje razvoja odražava i specifična adaptacija na različite abiotičke uslove (svetlo, temperatura, vlažnost) na mestu razvoja larvi (Becker i sar., 2010). Za komarce vrste *Cx. pipiens* dužina perioda razvoja ovisna je isključivo o temperaturi. Pri temperaturi od 30 °C, piljenje se dešava nakon samo jednog dana od polaganja jaja, pri temperaturi od 20 °C i 10 °C piljenje traje između tri i deset dana, a na temperaturi od 4 °C razvoj i piljenje ne može se do kraja završiti.

Vreme piljenja konkretno zavisi od idealnih uslova koji su preduslov za razviće larvi. Različito je vreme piljenja komaraca kod vrsta koje prezimljavaju (*Oc. cantans*) i poplavnih vrsta komaraca (*Ae. vexans*). Vrste roda *Aedes/Ochlerotatus* imaju razvijene visoko sofisticirane mehanizme piljenja, koji su uveliko povezani sa kolabirajućim abiotičkim faktorima u privremenim vodama u kojima se nalaze komarci (Becker i sar., 2010). Jaja komaraca koja prezimljuju, obično se legu u rano leto, na taj način embrioni u jajima ulaze u fazu dijapauze i nemaju sposobnost piljenja u vreme visokih temperatura i smanjene količine vode tokom letnjeg perioda, pile se tek narednog proleća uz povoljne abiotičke faktore.

Komarci vrste *Ae. vexans* nazivaju se poplavnim vrstama komaraca iz razloga jer se pile u privremenim vodenim tokovima, koja su uzrokovana brzim fluktuacijskim nivoima vode, koja nastaje velikom količinom oborina ili topljenjem snežnog pokrivača u Alpima, u prolećnim i jesenjim mesecima. Najbolji vremenski period za piljenje ovih vrsta komaraca je između aprila i septembra, što bi značilo da je trajanje njihove dijapauze za vreme jeseni, zime i ranog proleća (Telford, 1963). Ovakve vrste komaraca osiguravaju razvoj nekoliko populacija u periodu piljenja, koje je direkto povezano sa količinama pridošle vode. Tokom perioda visokih nivoa permanentnih/poplavnih/pridošlih voda, vode su bogate kiseonikom, piljenje u takvim vodama često je otežano, a kao dodatni neprijatelji jajima pojavljuju se i pridošle ribe.

Poplavne vrste komaraca imaju specifično ponašanje prilikom piljenja. Smanjenjem koncentracije rastvorenog kiseonika u vodi dovodi do početka piljenja (Becker i sar., 2010). Smanjenje kiseonika događa se kada pridošla voda stagnira, jaja se pile samo jednom pri tom vodostaju u tim stagnantnim vodama, gde se na taj

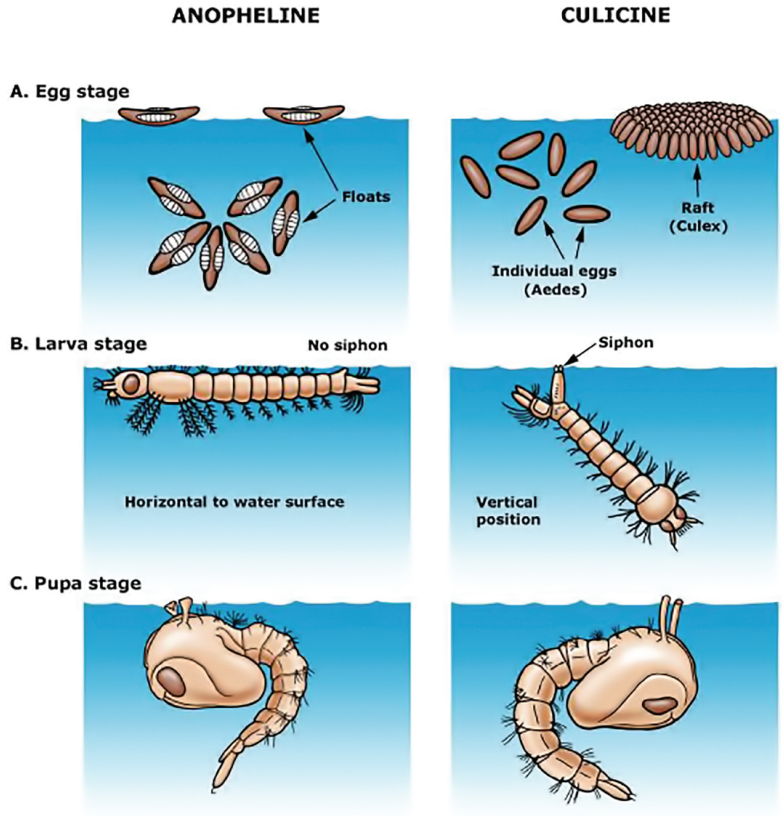
način osigurava da promena vodostaja ne odnese polu piljena jaja, a i razgrađeni organski materijal osigurava dovoljnu količinu hrane tek ispiljenim larvama.

Osim vode koja je krucijalna za razvoj, temperatura vode igra važnu ulogu. Kod poplavnih vrsta komaraca, čija su jaja prezimila od jeseni do ranog proleća, neće doći do piljenja jaja pre nego što temperatura vode ne bude dovoljno zagrejana da osigura brzo piljenje i razvoj ličinke. Nakon zimske pauze i malim porastom temperature, manji postotak komaraca *Ae. vexans* imaju mogućnost piljenja pri 4 °C. U prolećnim mesecima do piljenja najčešće dolazi pri temperaturi vode od 15 °C. Važno je povući paralelu da pri istoj temperaturi u oktobru ili novembru ne dolazi do piljenja, jer u to vreme takva voda bi produžila vreme razvoja larvi i nivo vode je u potencijalnom opadanju. Bitno je napomenuti da je nakon zimskog perioda spremnost jaja za piljenje u direktnoj korelaciji s povećanjem temperature. Viša temperatura u vreme polaganja jaja i niža temperatura tokom zimskog perioda dovode do veće mogućnosti piljenja u predstojećem letu. Kompleksno ponašanje prilikom diapauze omogućava larvama *Ae. vexans* da razlikuju povoljne uslove za piljenje i razvoj od nepovoljnih u vreme jesenjih meseci. Neverovatna je činjenica da nepovoljni zimski uslovi, čak i smrzavanje, neće dovesti do propadanja jaja koja se nalaze u periodu dijapauze.

### 3.3. Larve

Nakon polegnutih jaja i povoljnih temperaturnih uslova u vodi, dolazi do piljenja larvi. Larve komaraca pripadaju „apodnim“ larvima jer nemaju noge. Veličina ličinke je različita, ali obično su veličine do jednog do deset milimetara. Telo larvi podeljeno je na tri segmenta: (a) **glava** na kojoj se nalaze usta, oči i antene, (b) **grudi**, (c) **stomak** koji je izgrađen od sedam gotovo identičnih segmenata i tri modifikovana posteriorna segmenta. Navedeni posteriorni segmentu na sebi imaju četiri papile koje imaju ulogu u regulaciji elektrolita te se na VIII segmentu nalazi sifon uz pomoću kojeg udišu atmosferski kiseonik kada se nađu iznad nivoa vode. Sifon se nalazi na VIII segmentu kod vrsta i rodova iz podfamilije *Culicinae*, dok se kod komaraca podfamilije *Anopheline* se ne nalazi sifon, nego spirakularni deo, koji se razvio na mestu gde se trahealno stablo završava otvorom, kroz koji se dešava oksigenacija. Larve komaraca navednih podfamilija lako je organoleptički razlokovati iz razloga jer svoje telo postavljaju različito u odnosu na površinu vode. Uobičajeno je da larve *Culicinae* postavljaju glavu

prema dole u odnosu na nivo vode, dok *Anophelinae* telo postavljaju skoro horizontalno s vodenom površinom (Slika 9).



Slika 9. Razlike između podfamilija *Anophelinae* i *Culicidae*



Prema načinu ishrane, larve mogu biti predatori ili filtrirati čestice u vodi. U skladu sa tim, najčešća hrana su im mikroorganizmi, praživotinje, alge i detritus (Becker i sur., 2010). Filtriranje je najčeći oblik hranjenja, pri čemu se bočni nepčani privesak pomiče naprijed-nazad terajući vodu sa česticama u unutrašnjost usta ili dolazi do aktivnog pomeranja larve pri čemu hrana spontano ulazi u usta larve (Dahl i sur., 1988). Veličina čestica hrane koju larva pojede je oko 50  $\mu\text{m}$ . Vrste roda *Aedes/Ochlerotatus* predstavljaju izbirače u odabiranju hrane, u smislu raspadnutih, izgrebanih ili iseckanih čestica, mikroorganizama, algi i praživotinja sa površine ili sa mikrobnog filma koji se nalazi na površini vode (najčešće se njime hrane larve *Anopheles*). Ponekad i manji delovi uginulih beskičmenjaka i biljaka mogu biti hrana larvama. Larve roda *Anopheles* postavljene su horizontalno s obzirom na vodenu površinu, dok su im glava i usta postavljene prema dole, tako da prilikom hranjenja larva okreće svoju glavu za 180°, uz pomoć čekinja stvara struju vode i tera hranjive čestice direktno u usta. U nepovoljnim uslovima (uzburkana voda) larva je u mogućnosti, kratak vremenski period, zaroniti i uz pomoć fleksibilnog abdomena pomerati se unazad.

Larva se razvija i raste u fazama prolazeći kroz četiri stupnja i presvlačenja, tokom kojih se njena veličina povećava od oko 2 mm (larva prvog stupnja - L1) do oko 10 mm dužine (larva četvrtog stupnja - L4). Svaka faza presvlačenja kordinisana je relativnom koncentracijom i povećanjem juvenilog hormona i ekdizona.

Brzina razvoja zavisi od temperature kao i u slučaju razvoja jaja. Postoje velika odstupanja u optimalnim temperaturama za razvoj larvi kod različitih vrsta komaraca. Komarci koji prezimljavaju (snow-melt) mogu završiti svoj razvoj pri temperaturi od 10 °C, dok pri 25 °C nisu u mogućnosti uspešno se razviti. Većinom su to komarci koji svoja jaja polažu u periodu februara meseca ili nešto kasnije, te se pile i razvijaju dva do tri meseca kasnije (maj/april). Za razliku od njih, poplavne vrste komaraca *Ae. vexans*, razvijaju se pri višim temperaturama u kraćem vremenskom periodu od 6-7 dana pri temperaturi od 30 °C. Urbane vrste komaraca kao što je *Cx. pipiens* uspešno se razvijaju pri temperaturama od 10 °C do 30 °C.

### 3.4. Lutka

Iz larve četvrtog stupnja posle presvlačenja nastaje lutka koja takođe živi u vodi, ali se ne hrani. Tokom stadijuma lutke odvija se proces potpunog preobražaja poznat kao metamorfoza. Lutka predstavlja prelazni

stupanj u kojem dolazi do određenih morfoloških promena larve na putu ka odraslom komarcu. Najznačajnija promena je fuzija glave i grudi u tvorevinu zvanu **cephalothorax**, dok stomak ostaje posebno, zbog čega je telo larve dvodelno, a ne trodelno kao kod larvi. Dužina trajanja ovog stadijuma zavisi o temperaturi. Pri višim temperaturama smanjuje se period stadijuma lutke dok se pri nižim temperaturama period produžava.

Larve komaraca su pokretne, a nakon zaranjanja uzrokovanog naglim poremećajima površine vode, larva se pasivno vraća na površinu. Larve i lutke za disanje koriste atmosferski vazduh kojim se snabdevaju dolazeći do površine vode što nekim vrstama omogućava da prežive u zagađenim vodama sa niskim sadržajem kiseonika. U najpovoljnijim uslovima, kada je dostupno dovoljno hrane i kada je temperatura vode optimalna (20-25 °C), vodena faza razvoja završava se za manje od nedelju dana. Bitna prilagođenost opstanka komaraca je što se odrasle jedinke mogu razviti i iz relativno oštećene lutke (Becker i sar., 2010).

### 3.5. Odrasli

Odrasla jedinka predstavlja završni stadijum metamorfoze komaraca. Lutka se postavlja u horizontalni položaj i zatim guta vazduh kako bi se povećao pritisak između kutikule lutke i odrasle jedinke što dovodi do pucaanja kutikule lutke duž ekdisalne linije (Mohrig, 1969). Odrasla jedinka, mužjak ili ženka, izlazi iz lutkine košuljice koju ostavlja u vodi, zatim se kratko vreme odmara na površini da bi poletanjem započela fazu života na kopnu.

Razlika je u spolnom sazrevanju mužjaka i ženki. Mužjaci komaraca nisu spolno zreli nakon izletanja. Mužjaci moraju rotirati njihov *hipopigium* za 180° pre rojenja, za čega im je potrebno vreme od jednog ili dva dana. Mužjaci kasnije spolno sazrevaju nego što to čine ženke, zbog čega njihov stadijum odrasle jedinke nastupa obično dan do dva pre nego kod ženki (Gillett, 1983). Kako bi se to postiglo skraćuje se vreme razvoja larve mužjaka što za posledicu ima da su odrasli mužjaci pojedine vrste manji nego odrasle ženke iste vrste komaraca.

Nakon izletanja odrasle jedinke su spremne za nastavak svog života te su spremne da se pare, hrane i postanu spremne za ovipoziciju. U roju se može nalaziti od nekoliko do nekoliko hiljada mužjaka i najčešće se rojevi stvaraju pri manjim intenzitetima svetla tokom dana, najčešće za vreme svitanja i/ili sumraka. Mužjaci u roju lete napred nazad i ovakav način letenja naziva se svadbeni let. Zvuk koji se pri letenju (koji nastaje pomeranjem krila) stvara ima frekvenciju od 600 c/s, dok ženke stvaraju frekvenciju od 500-550 c/s (Becker i sar.,

2010). Antene mužjaka razvijene su i rasperjanije nego kod ženki upravo iz razloga jer mužjaci primaju zvuk koji proizvode ženke. Ulaskom ženke u roj komaraca, uz pomoću receptora mužjaci istovremeno primećuju da se ženke nalazi u roju. Kopulacija se kod komaraca događa licem u lice prilikom leta i odvija se izvan roja. Obično sam proces kopulacije traje manje od minuta, i za to vreme mužjaci deponuju spermu u kopulacijski prostor ženke (Clements, 1999). Sekretorne žlezde mužjaka stvaraju supstancu koja nakon kopulacije kod ženke čini da ženke postaje neprimljiva (za spermu) tokom celog njenog budućeg života. Ženke pohranjuju dovoljnu količinu sperme koja im osigurava oplodnju nekoliko paketića jaja, bez potrebe za ponovom kopulacijom. Za razliku od ženki, mužjaci se mogu pariti nekoliko puta. Vreme i odabir mesta za svadbeni let specifično je za vrste. Rojenje nije specifično za sve vrste, vrste koje se ne roje nazivaju se stenogamne (dešava se inseminacija).

### 3.6. Disperzija i pronalazak domaćina

Kod većine vrsta komaraca oogeneza se ne može završiti dok ženka ne uzme krvni obrok. Međutim, postoji nekoliko razvijenih obrazaca ponašanja prilikom kojih ženke pronalaze i odabiru domaćine od kojih će uzeti krvni obrok. Primarno, pronalazak domaćina zavisi o olfaktornim, termalnim i vizuelnim podražajima domaćina. Na antenama ženki nalazi se veliki broj receptora koje su u mogućnosti prepoznati podražaje domaćina kao što su ugljen dioksid, mlečna kiselina, oktenol, aceton, butanon i komponente fenola.

Proces pronalaska domaćina zavisi o vrsti, ali se može podeliti na tri faze: (a) **slobodan let** - let prilikom kojeg ženka leti u svim smerovima dok se ne orijentiše uz pomoć mirisa prema potencijalnom domaćinu, (b) **let prema domaćinu** - podrazumeva let prema domaćinu kada je ženka osetila njegov mirisni podražaj i usmerila se prema njemu (jačina mirisnog podražaja smanjuje udaljenosti između ženke i domaćina), (c) **direktan let** - let prilikom kojeg je ženka sigurna da je pronašla svog domaćina, domaćin se nalazi u neposrednoj blizini. Ponašanje prilikom odabira i pronalaska domaćina različito je između vrsta. Može se podeliti na: (a) vrste koje se uobičajeno odmaraju na mestima u blizini svojih domaćina i takve vrste ne preleću velike udaljenosti da bi došle do domaćina (*Cx. pipiens*), (b) vrste koje modifikuju svoju udaljenost prema mestu odmaranja i mestu pronalaska svog domaćina (*Oc. rusticus*), (c) vrste koje preleću velike udaljenosti kako bi istražili nova područja te tamo pronašli domaćine, ali i zbog polaganja jaja na pogodnim staništima (*Ae. vexans*).

Let komaraca pod uticajem je temperature, vlažnosti vazduha, nivoa osvetljenja, brzine vetra i fiziološkog stanja ženke. Vrste iz rodova *Aedes/Ochlerotatus* migriraju tokom sumraka kada dolazi do pada temperature i povećanja vlažnosti zraka, na taj način su ove vrste mnogo aktivnije noću i za vreme mesečine (Becker i sar., 2010). Vrste koje preleću ili lete na većim udaljenostima: njihov let se može okarakterisati sa dve vrste leta koji se nazivaju pasivni i apetitivni let. Tokom pasivnog leta komarci lete uz pomoć brzine i smera vetra. Najčeći oblik pasivnog leta događa se neposredno prilikom izletanja mladog komarca i njegovog uletanja u roj. Apetitivni let, reakcija je na fiziološki podsticaj, a značajan je za ženke komaraca koje su starije od 24 sata. Uslovljen je stanišnim i vremenskim prilikama, jer ukoliko one ne zadovoljavaju potrebe ženke za krvnim obrokom, pronalaskom mesta za ovipoziciju, mesta za odmor i sl., ženka komarca krene u apetitivni ili tzv. istraživački let. Opisan je kao let kraćeg trajanja kojeg kontroliše sama jedinka komarca. Smer i brzina vetra deluju na let komaraca. Brzina je smanjena trenjem koje nastaje kada vetar prelazi preko prepreka u prirodi, pa to trenje raste proporcionalno kompleksnosti terena. Ako je brzina vetra manja od brzine leta komaraca, što najčešće iznosi jedan metar u sekundi ( $\text{ms}^{-1}$ ), komarci lete uz vetar, a ako je brzina vetra veća od  $1 \text{ ms}^{-1}$ , tada lete niz vetar ili je aktivni let obustavljen (Bidlingmayer & Evans, 1987).

Tokom istraživačkoga leta dva faktora određuju stazu leta komaraca: smer vetra, odnosno uticaj meteoroloških faktora i orijentacija komaraca prema vizualnim podražajima. Moguće je da u trenutcima kada su energetske rezerve komarca smanjene, apetitivni let bude prekinut povremenim odmorima. Za vreme leta odgovarajući osetilni organi, kao što su mirisni, vidni, termički, slušni ili receptori za relativnu vlažnost vazduha, pripralni su za otkrivanje željenoga objekta. Kada biohemijski ili vizuelni znakovi naznače blizinu cilja, završava apetitivni let, a počinje konzumacijski let.

Konzumacijski let direktan je i kratak, jer biohemijski molekuli ne deluju na većim udaljenostima. Ako je isključivo mirisni podražaj u pitanju, let komaraca odvija se uz vetar direktno prema cilju, a vizualno zapažanje i izoštrene motorička ili termička osetila, omogućavaju ženki lociranje njenog cilja mnogo preciznije. Konzumacijskom letu ne mora prethoditi apetitivni let (npr. ženka komarca ubošće domaćina ukoliko on uđe u prostor njenog dnevnog odmora). Dok migracijski let traje jedino tokom prve noći, a trajanje konzumacijskih letova je kratko, gotovo sve letne aktivnosti ženki komaraca tokom njihovog života ulaze u kategoriju apetitivnoga, istraživačkoga leta.

Na sposobnost leta komaraca deluje fiziologija komaraca i uslovi okoline. Fiziologija je vezana za već

spomenute primarne potrebe komaraca za hranom, belančevinama i ugljenim hidratima, dnevnim i noćnim odmorom, pronalaskom mesta za ovipoziciju. Svemu navedenom treba dodati i starost ženke, jer su istraživanja pokazala da maksimalnu sposobnost leta, ženke različitih vrsta imaju u različitom starosnom razdoblju. Ono što je zajedničko svim vrstama komaraca, jeste let u svim smerovima kada je brzina vetra ispod  $1 \text{ ms}^{-1}$ , odnosno let niz vetar ili obustavljeni let, kada brzina vetra dostiže približno  $2 \text{ ms}^{-1}$ . Istraživanja su pokazala da *Ae. vexans* migrira otprilike 1 km tokom noći, uz povoljne uslove za let. Povećanje broja uhvaćenih komaraca *Ae. vexans* u CDC klopka uočava se na udaljenosti od 5 km, od njihovog mesta izletanja, nakon osmog dana njihove starosti, dok se u klopka udaljenim 10 km i više, markirani komarci pojavljuju unutar dve nedelje. Neki autori navode da su uhvatili markirane komarce *Ae. vexans* na 22 km i čak do 48 km, od mesta njihovog izletanja (Becker i sar., 2010). Za razliku od njih, vrsta *Cx. pipiens* koja se pili i izleće u blizini ljudi, može migrirati na manje od 500 m.

Horizontalna i vertikalna distribucija komaraca povezana je s načinom ishrane komaraca. Istraživanja su pokazala da su ženke *Ae. spp.* i *Oc. spp.* (*Ae. vexans*, *Ae. rossicus*, *Ae. cinereus* i *Oc. sticticus*) hvatane u klopka koje su bile postavljene na visini do 4 m od površine zemlje, dok su ženke podvrste *Cx. pipiens* najbrojnije u klopka na visini od 10 m. Ornitofagne ženke kao što su *Cx. p. pipiens* i *Cx. morsitans*, hranu pronalaze u krošnjama drveća, za razliku od zoofagnih, *Aedes* i *Ochlerotatus*, vrsta koje biraju sisare kao domaćine, pa su u skladu s tim i najzastupljenije u prizemnom sloju (Becker i sar., 2010).

### 3.7. Ishrana

Odrasli mužjaci uzimaju energetske obroke šećera biljnog porekla (npr. nektar, trulo voće). Samo ženke moraju da uzmu dodatne krvne obroke od životinja (ptice, vodozemci, gmizavci, sisari uključujući i čoveka) kako bi obezbedile belančevine potrebne za sazrevanje jaja. U toku života, koji obično traje nekoliko nedelja, ženke mogu uzeti nekoliko obroka krvi. Komarci imaju razvijenu usnu organizaciju za bodenje i sisanje. Usni delovi formiraju rilicu za bodenje – **proboscis**. Proboscis se sastoji iz cevi u obliku žljeba - donja usna (**labium**), u kojoj su smešteni stileti za bodenje. Sa gornje strane se nalazi izdužena gornja usna (**labrum**). U tako formiranoj cevčici od donje i gornje usne, nalazi se pet tankih bodlji - par **mandibula**, par **maksila** koje su nazubljene i služe

za probijanje kože kao i neparni, nenazubljeni, šuplji **hipofarinks** (Slika 10).

Delovi usnog aparata se drže priljubljeni, izuzev tokom uzimanja krvnog obroka. Usni aparat prilagođen za bodenje i sisanje koji omogućuje uzimanje sokova biljaka kao izvora ugljenih hidrata, a kod ženki on se koristi i za probijanje kože i isisavanje krvi. Nakon što je ženka odabrala domaćina i smestila se na njemu, ona nekoliko puta ispituje kožu labelom, tražeći krvni kapilar. Debljina i toplota kože su važni stimulusi koje ispituju komarci, budući da je površinska toplota kože u korelaciji sa gustinom kapilarne mreže. Ženka uz pomoć parnih maksila uspešno probija kožu domaćina te počinje da usisava njegovu krv. U toku uzimanja obroka, samo se stilete nalaze u koži, dok se *proboscis* sve više savija unazad kako komarac prodire dublje u tkivo. Pumpanje krvi se vrši pomoću dve „pumpe“ – **cibarialne** (*cibarium* je preoralno usno udubljenje između baze *hipofarinksa*, a ispod *klipeusa*) i **ždrelne**, koje predstavljaju organe za usrkavanje krvi ili biljnih sokova.

Važno je za ženku komarca da krv ostane u tečnom stanju i ne koaguliše, jer u suprotnom ona ne bi mogla da završi uzimanje obroka. Radi toga, ona ubrizgava pljuvačku na probijenom mestu. Sekret pljuvačnih žlezda sadrži antikoagulate slične hirudinu koji proizvode pijavice. Unošenje pljuvačke u tkivo domaćina obično izaziva reakciju njegovog imunog sistema koja se može ispoljiti u vidu zapaljenja na mestu uboda. Takvo mesto obično izaziva svrab, a češanjem se može prouzrokovati infekcija nastale ranice. Kada *stilete* komarca probiju krvni sud, komponente u sastavu krvi ADP i ATP, deluju stimulatивно na fagus komarca i on počinje da usisava krv.

Ženka komarca može da usisa tri puta više krvi od svoje težine. Krupnije vrste kao što je *Oc. cantans* može da usisa više od 6  $\mu$ l, a manje vrste kao *Ae. cinereus* svega 3,7  $\mu$ l. Krv, a posebno njeni proteini, su esencijalni za produkciju jaja kod anautogenih ženki. Samo neke autogene vrste kao što je *Cx. molestus* su sposobne da proizvedu prvu turu jaja bez uzimanja krvnog obroka. Oba pola komarca zahtevaju biljne sokove kao izvor energije, prvenstveno za letenje. Biljni šećeri koji se nalaze u cvetnom nektaru, oštećenim voćkama i sl, osnovni su izvor energije tokom života adultnih formi mužjaka i nekih vrsta ženki komaraca.

Komarci se razlikuju po načinu ishrane i odmaranja. Vrste, koje se pretežno hrane u zatvorenim prostorima nazivaju se **endofagima**, dok se vrste koje se radije hrane na otvorenom nazivaju **egzofagima**. Ženke, koje se odmaraju nakon uzimanja hrane ili tokom dana na otvorenom, nazivaju se **egzofilima**, a ženke koje se odmaraju u zatvorenim prostorijama – **endofilima**. **Ornitofilija** je pojava da ženke preferiraju ishranu na pticama (ornitofilne vrste), **zoofilija** kada se ženke hrane na drugim životinjama (zoofilne vrste), dok se termin **antropofilija** odnosi na vrste čije se ženke hrane pretežno na čoveku (antropofilne).

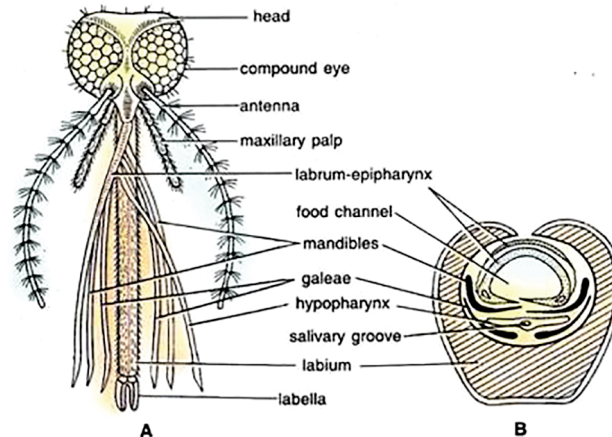


Fig. 75.2. *Culex*. A—Diagrammatic head and mouth parts of a female; B—T.S. of mouth parts.

Slika 10. Usna organizacija za bodenje kod komaraca

## 3.8. Morfologija komaraca

### 3.8.1. Odrasli

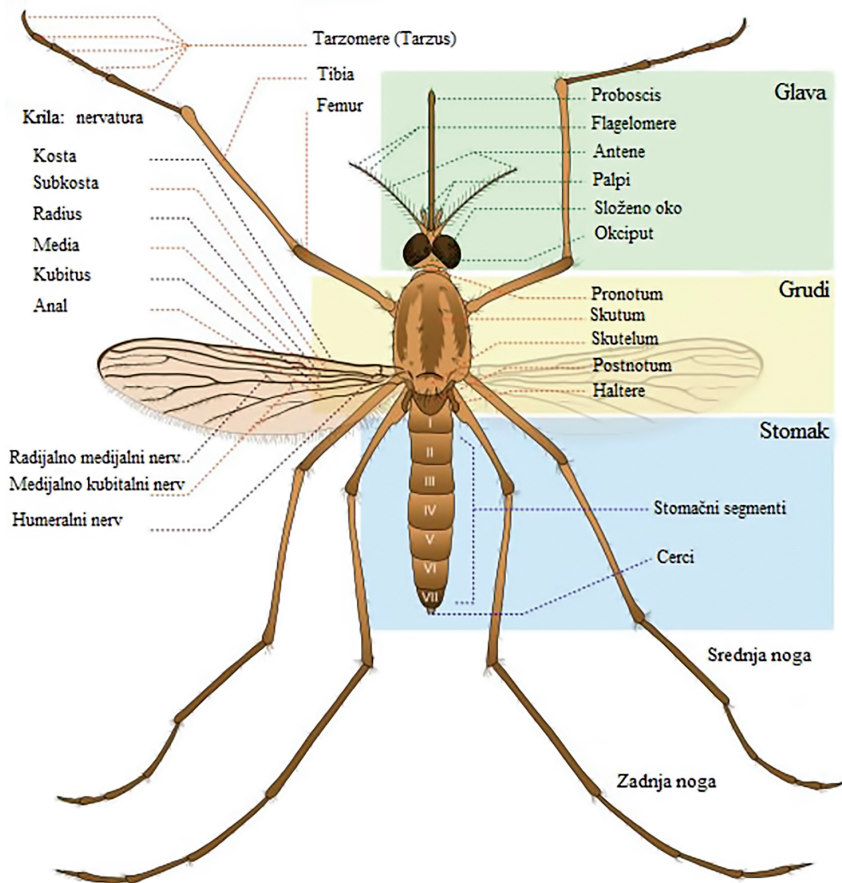
Odrasle forme komaraca najčešće su oko 3-10 mm dužine. Kao i kod drugih insekata telo ima tri glavna dela, glavu (*caput*), grudi (*thorax*) i stomak (*abdomen*). Na glavi se nalaze sastavljene oči, antene i usni aparat. Antene kao parni čulni organi sastoje se od 13 flagelomera spojenih na pedicelus, koji ima oblik okrugle petlje koja u sebi ima džonstonov organ. Džonstonov organ funkcioniše kao organ sluha. U morfologiji antena komaraca uočava se polni dimorfizam. Antene kod ženki su dužine oko 1,5 mm, sa dužinom pojedinog segmenta

u rasponu od 90  $\mu\text{m}$  do 160  $\mu\text{m}$ . Antene mužjaka su duže, oko 2,2 mm, dok su poslednja dva terminalna segmenta blago povećana (između 380  $\mu\text{m}$  i 200  $\mu\text{m}$ ) (Van den Broek, 2000). Polni dimorfizam između mužjaka i ženki najbolje se uočava u perastom tipu antena, koje su kod mužjaka puno duže i jasno izraženije nego kod ženki. Rasperjanije antene mužjacima pomažu u lakšem pronalaženju nektara, koja im je osnovna hrana, i prilikom rojenja. Neposredno iznad svake antene nalaze se palpi koji mogu biti kratki ili dugački, a kod nekih vrsta i prošireni, te njihov oblik i veličina variraju između vrsta. Između palpi nalazi se izduženi proboscis, na kojem se kod ženkin komaraca nalazi usni aparat za bodenje, dok mužjaci imaju usnu aparat za lizanje i srkanje (Slika 11).

Između glave i toraksa nalazi se membrana koja ih povezuje i naziva se vrat (*cervix*). Toraks je prekriven, dorzalno i lateralno, ljuspicama koje mogu biti mat ili sjajne, bele, braon, crne ili čak ne moraju imati boju. Postavljene su na dorzalnoj strani toraksa te zbog svog različitog oblika i boje, kod mnogobrojnih vrsta stvaraju različiti uzorak tj. izgled obojenosti toraksa. Toraks se sastoji od tri segmenta (*prothorax*, *mesothorax* i *metatorax*), na svakom segmentu nalazi se po jedan par nogu. Noge kod komaraca su duge i tanke, te prekrivene ljuspicama koje su najčešće braon, crne ili bele, i obično su raspoređene na način da stvarju obojene prstenove oko članaka. Noge su građene od pet segemenata: *coxa*, *trochanter*, *femura*, *tibia* i *tarsusa*. Poslednji segment noge (*tarsus*) sastoji se od od 5 tarzomera prekrivenih dlačicama. Tarzomere su međusobno povezane fleksibilnom membranom koja im omogućava pojedinačno pomeranje. Srednji segment (*mesothorax*) toraksa obično je i najveći segment i na njemu se nalaze krila. Krila su duga i uska, broj i položaj nerava na krilima različit je među vrstama. Krila su kao i većina tela komarca prekrivena ljuspicama koje stvaraju karakterističnu obojenost kod svake vrste.

Abdomen je zadnji deo tela komarca. Sastoji se od deset segmenata, od kojih je samo sedam ili osam segemenata vidljivo, i terminalnih genitalnih struktura uključenih u reprodukciju. Na abdomenu komarca nalazi se veliki broj dlačica (*setae*) i ljuspica (*scales*) koje imaju važnu ulogu prilikom determinacije odraslih formi komaraca. Zbog prisustva velikog broja dlačica i ljuspica, telo komarca je različito obojeno. Ljuspice na abdomenu su najčešće tamne ili svetle. Tamni tonovi ljuspi mogu varirati od crvenkasto braon do crne u zavisnosti od vrste i u manjoj meri od starosti jedinke. Neke vrste komarca imaju ljuspice metalik boje koje se prelivaju u plavu, zelenu, plavocrvenu ili ljubičastu, pod različitim izvorima svetla. Svetle boje ljuspica variraju od bele, srebrne, žute do zlatne. Sam izgled i položaj ljuspica na abdomenu komarca varira od širokih i ravnih, uskih i zakrivljenih do uspravnih i kosih (Becker i sar., 2010).





Slika 11. Spoljašnji izgled odrasle forme komarca vrste *Culex pipens*  
 (foto: <http://www.wikiwand.com/>)

### 3.8.2. Jaja

Jaja komaraca obično su veličine oko 1 mm. Ljuska (*chorion*) jajeta izgrađena je iz dva sloja (spoljašnjeg i unutrašnjeg). Spoljašnji sloj ljuske je bezbojan dok je unutrašnji sloj bele boje kod ispiljenih jaja, ali boja tokom nekoliko sati po piljenju postupno postaje tamno smeđa. Jaja sklerifikuju. Ženke roda *Culex* polažu nekoliko stotina međusobno povezanih jaja u jajna legla, koje imaju oblik čunića. Tokom ovipozicije ženke stoje na površini vode s položajem zadnjih nogu u obliku slova V. Jaja se ispuštaju kroz genitalni otvor između zadnjih nogu formirajući leglo od pojedinačnih jaja u obliku lađice. Jaja su postavljena vetikalno u odnosu na telo ženke, te su međusobno povezana horionskim izbočinama (Clements, 1992). Donja strana svakog jajeta ima krunicu sa hidrofilnom površinom koja naleže na površinu vode. Unutrašnja površina krunice je hidrofobna, što omogućava održavanje položaja jajeta i njegovo plutanje na površini vode (Slika 12).



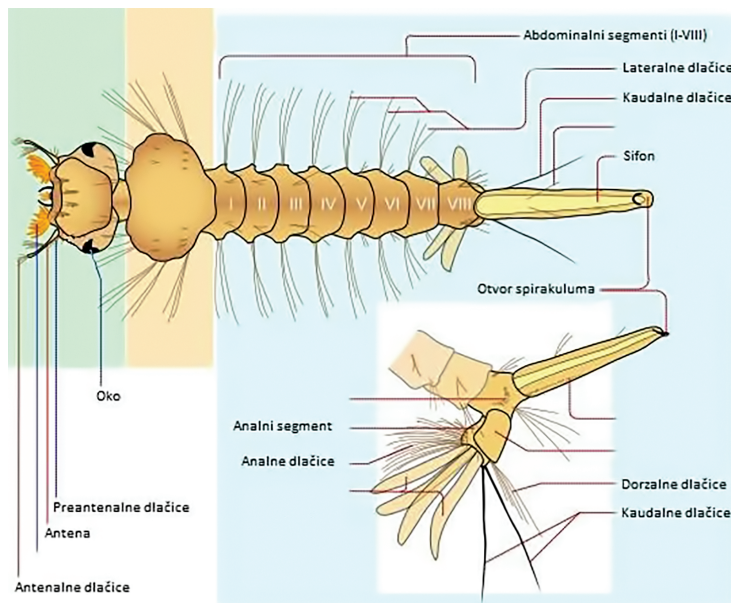
Slika 12. Izgled jajnog legla „čunića“  
(foto: <http://www.flickr.com/>)

### 2.8.3. Larva

Larva komarca ima ista tri sastavna dela kao i odrasle forme što znači da je larva izgrađena od glave (*caput*), grudi (*thorax*) i stomaka (*abdomen*) koji na sebi nose brojne dlačice (*setae*), koje imaju značajnu ulogu prilikom klasifikacije i determinacije. Glava je sklerotizirana kapsula (*cranium*) na kojoj se nalazi usni aparat, oči i antene. Međusobno je povezana sa toraksom uz pomoć membrane koja predstavlja vrat (*cervix*). Grudi se sastoje od *prothoraxa*, *mesothoraxa* i *metathoraxa*, koji se odlikuju nizom bilateralno parnih kružno raspoređenih seta (dlačica).

Abdomen se sastoji od deset segmenta koji su međusobno povezani, pri kraju abdomena dolazi do njegovog blagog sužavanja. Na VIII abdominalnom segmentu nalazi se leđni (*dorzalni*) sifon na kojem se nalazi apikalni ventilarni aparat koji završava sa otvorom (*stigma*). S dorzalne strane na VIII segmentu nalazi se analni segment na čijem kraju se nalaze analne škrge i analni češljčić. Područje VIII abdominalnog segmenta, koje se nalazi između sifona i analnog segmenta naziva se *comb* (češljčić), te se na njemu nalaze ljuskice, koje su isto tako značajne za determinaciju.

Determinacija larvi komaraca u velikoj meri zavisi od rasporeda i broja grana (čuperaka) na setama (*chaetotaxy*). Ukupno se na telu larvi nalazi oko 193 para simetrično raspoređenih seta (tu se ne ubrajaju one iz usta i oko usnog aparata) (Clements, 1992). Set od šest seta pojavljuje se na antenama, maksimalno 19 parova



Slika 13. Spoljašnji izgled larve komarca *Culex pipens* (foto: <http://www.wikiwand.com/>)

nalaze se na lobanji, 15 na *prothoraxu*, 14 na *mesothoraxu*, 13 na *metathoraxu*, 12 se nalazi na prvom abdominalnom segmentu, 15 na abdominalnim segmentima II-VII, 7 na abdominalnom segmentu VIII, 13 na sifonu. Prilikom determinacije najčešće se koristi broj i izgled seta na glavi i terminalnim abdominalnim segmentima (VIII i IX) te sifonu (Slika 13).

### 3.8.4. Lutka

Za razliku od lutki drugih insekata, lutka komarca je posebno aktivna i vrlo pokretna u vodenoj sredini. Telo lutke ne podseća na telo odrasle forme komarca, jer su glava i grudni koš međusobno povezani izduženim privescima u oblik koji se naziva cefalotoraks (*cephalotorax*). Cefalotoraks nosi par dorzolateralnih dodataka poznatih kao truba. Svaka truba sadrži otvor za disanje (*mesothorax*), koji osigurava plutanje lutke ispod površine vode. Abdomen lutke zadržao je od stadijuma larve dobru muskulaturu koja predstavlja bazu za pokretljivost lutke. Abdomen se sastoji od devet segmenata, koji završavaju parnim spljoštenim segmentom, koji imaju oblik vesla, te služe za pokretanje lutke. Tokom metamorfoze organizam koji je nastao tokom IV larvenog stupnja u potpunosti se menja u stadijumu lutke. Ova završna faza metamorfoze može se, pri povoljnim uslovima sredine, odvijati za jedan ili dva dana. Kada je odrastao komarac potpuno formiran unutar kutikule lutke, izlazi iz kutikule i stoji na površini vode na kojoj se odmara, i započinje gutanje vazduha (Clements, 1992).



Slika 14. Spoljašnji izgled lutke komarca *Culex pipens* (foto: <http://www.influentialpoints.com/>)

### 3.9. Životni ciklus

Modeli ponašanja različitih vrsta komaraca pokazuju da vreme potrebno za pronalazak krvnog obroka (T), relativna veličina jajnog legla (P), te potencijalno preživljavanje prilikom uzimanja krvnog obroka (S) imaju veliku ulogu na veličinu populacije razvijenih jedinki. Autogene ženke su u prednosti ukoliko su T i P veći, te istovremeno dok je S manji; uslovi u kojima dolazi do razvoja larvi te visok stepen mortaliteta larvi smanjuje prednost autogenih ženki nad anautogenim, dok visok stepen mortaliteta odraslih nema prednost kod anautogenih ženki (Vinogradova, 2000).

Cx. *pipiens* je sinantropna vrsta komaraca široko rasprostranjena u umerenom toplotnom pojasu (Vinogradova, 2000). Ova vrsta komaraca javlja se u dve biološke forme, pod imenom *molestus* i *pipiens*, koje pokazuju značajne razlike u fiziologiji i ponašanju. Forma *pipiens* je eurigamna (za rojenje joj je potreban veliki prostor, otvoreno stanište), anautogamna (pre ovipozicije potreban im je krvni obrok), heterodinamna (tokom zimskog perioda nalazi se u stanju dijapauze) i ornitofilna (domaćini su pretežno ptice) (Harbach i sar., 1984; Harbach i sar., 1985). Nasuprot tome, forma *molestus* je stenogamna (roji se na malom prostoru, < 0,1 m<sup>3</sup> (Clements, 1999), autogamna (razvija i polaže jaja bez prethodno uzetog krvnog obroka), homodinamna (ostaje aktivna tokom zimskog perioda/nema pravu dijapauzu) i mamofilna (preferira sisare kao domaćine, uključujući i čoveka) (Gomes i sar., 2013).

Parenje se kod vrste Cx. *p. pipiens* biotip *molestus* događa bez rojenja. Parenje se može dogoditi i u periodu kada se ženka i mužjak nalaze u fazi homodinamnosti (Tamarina & Fedorova, 1983). Mužjak komarca ne predaje spermu ženki tokom kopulacije u vidu tečnosti sa slobodno plivajućim spermatozoidima, već sperma sadrži kapsule (*spermatophore*) u kojima se nalaze spermatozoidi. Tokom polnog odnosa, mužjak preko polnog organa (*aedegusa*) izbacuje spermatofore u neparni jajovod (uterus) ženke. Oplodnja je kod vrste Cx. *p. pipiens* biotip *molestus* u većini slučajeva 100% efikasna, ukoliko se događa kada su ženke stare šest sati (Olejniček, 1990). Za vrstu Cx. *p. pipiens* biotip *molestus* koja je autogena, neposredno nakon parenja, ženka polaže jaja.

Spoljašnji uslovi (smanjena dnevna količina svetla, niža temperatura vazduha i vode) utiču nepovoljno na normalno funkcionisanje odraslih ženki Cx. *p. pipiens* biotip *molestus*, koje su zbog toga prinuđene da uđu u fazu homodinamnosti. Tokom faze homodinamnosti ženke imaju mogućnost razgradnje nagomilane

masti u telu (Schaefer & Washino, 1970), sintetizuju hormone koji pomažu prilikom očuvanja folikula (Reisen i sar., 1986). Krajem septembra ili tokom oktobra, zavisno od temperature vazduha i dužine fotoperioda, koji su najznačajniji preduslovi, ženke roda *Culex* će u tom periodu ući u fazu homodinamnosti. Ženke izlaze iz faze homodinamnosti tokom ranih prolećnih meseci, njihov broj je relativno mali, pošto je smrtnost preživljavajućih ženki vrlo visoka (u proseku iznad 81%) (Petrić i sar., 1986).

Obe vrste *Cx. p. pipiens* biotip *pipiens* i *Cx. p. pipiens* biotip *molestus* stvaraju legla međusobno povezanih jaja u oblik čunića, međutim jedinke vrste *Cx. p.* biotip *pipiens* imaju potrebu za prvim krvnim obrokom pre ovipozicije, što ima veliki uticaj na broj jaja u lađici. Zbog toga, ženke *Cx. p. pipiens* biotip *molestus* (koji se hrane nektarom) u proseku imaju oko  $78.9 \pm 7.0$  (SE, n=13) jaja po lađici prvog jajnog legla, dok je prosečan broj jaja za vrstu *Cx.p. pipiens* biotip *pipiens*  $190.7 \pm 7.7$  (SE, n=3) (Takken & Knols, 2010). Uporedo sa digestijom nektara kod vrste *Cx. p. pipiens* biotip *molestus*, u abdomenu, razvijaju se jaja koja polako ispunjavaju oslobođen prostor i abdomen dobija beličastu boju u zadnjem delu i tamno crvenu u prednjem. U ovoj fazi, ženka se smatra polu-gravidnom. Kada potpuno razvijena jaja ispune abdomen, koji usled toga poprima beličastu boju, ženka je gravidna te pronalazi pogodno mesto za ovipoziciju. Ženke vrste *Cx. p. pipiens* biotip *molestus* polažu jaja na površini vode i pile se odmah nakon razvoja embriona (Slika 15). Vrste koje polažu jaja na ovakav način produkuju po nekoliko generacija svake godine. Njihove jedinke u raznim stadijumima razvoja mogu se naći u stalnim vodama, gde jedna generacija smenjuje drugu tokom sezone. Broj generacija zavisi od dužine trajanja sezone, kao i biotičkih i abiotičkih faktora, od kojih najvažniji uticaj ima temperatura.

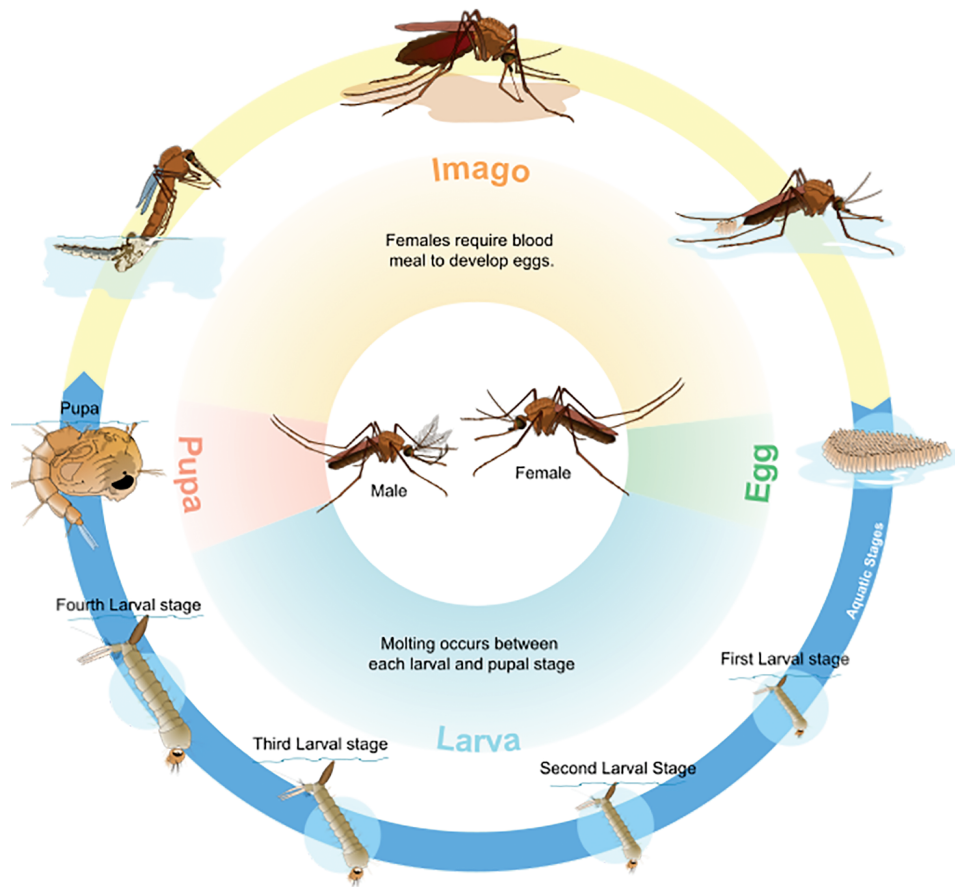
Larve komaraca prolaze kroz četiri razvojna stupnja. Rast larve kontinuirano se nastavlja prelaskom iz jednog u drugi larveni stupanj, koji se uočava povećanjem mase tela koje je obloženo tankom kutikularnom opnom. Delovi larve koji nisu prekriveni čvrstim skeletom rastu u većini slučajeva izometrički (Clements, 1992).

Presvlačenje kutikule, koja se događa tokom rasta larvi, ima značajnu ulogu tokom razvoja larvi. Svako presvlačenje larvi predstavlja nastajanje nove larve određenog stupnja. Presvlačenje predstavlja odvajanje epidermisa od kutike i naziva se apoliza. Na taj način dolazi do stvaranja nove kutikule, dok stara kutikula biva resorbovana. Kutikula je kod larvi izgrađena od tri sloja: epikutikule, egzokutikule i endokutikule. Kod larve epidermis se odvajava od kutikule, dolazi do stvaranja nove kutikule i čekinjastih privesaka

duž trahealnog epitela, te uporedo dolazi do uvlačenja trahealne obloge i stvaranja nove kutikule oko njih (Clements, 1992). Nakon toga dolazi do razdvajanja prethodno izražene dorzalne egdzalne linije, koja je raspoređena kružno oko glave larve. Pomeranjem glave larve, dolazi do probijanja stare kutikule i larva je u mogućnosti da izvuče svoje telo. Vrlo često, samo navedeni proces traje manje od minuta. Ubrzo nakon hranjenja larvi, dolazi do otvrdnjavanja nove kutikule i istih procesa rasta i sazrevanja larvenog stupnja nakon čega dolazi do presvlačenja u novi stupanj/stadijum (Slika 15).

Nakon četvrtog stupnja larve dolazi do formiranja lutke. Lutke se ne hrane. U ovom stadijumu dolazi do procesa metamorfoze, tokom koje se dešava razgradnja larvenih organa, dok se telo odraslog komarca formira kroz razvoj imaginalnih diskova (ćelije ili grupa ćelija koje ostaju u stanju mirovanja u telu larve do stadijuma lutke). Masno tkivo koje se nalazi u larvi komarca se prebacuje u stadijum odraslog komarca i koristi se kao izvor vitelogenina za formiranje jaja kod autogenih formi komaraca. Stadijum lutke predstavlja poslednji juvenilni stadijum koji se završava u toku jednog do dva dana ukoliko su temperature vode pogodne.

Presvlačenje koji se dešava između larve IV stupnja i lutke dovodi do nastanka novih respiratornih cevi i ogranaka čekinja ispod kutikule. Nakon presvlačenja kod lutke dolazi do srašćivanja glave i toraksa u zajedničku celinu, oko njih se formira oklop, unutar kojega se zadržava određeni volumen vazduha. Kada je poslednja faza metamorfoze gotova, vazduh ulazi između lutke i novo nastale kutikule odrasle jedinke. Lutka postavlja abdomen u horizontalnu poziciju, dolazi do gutanja vazduha, koji povećava prisutnost unutrašnjeg pritiska, usled čega dolazi do pucanja egdzijalne linije lutke i odrasla jedinka polako izlazi iz lutkine košuljice i stoji na površini vode (Slika 15.). Nakon toga, u telu odraslog komaraca, dolazi do povećanja hemolinfnog pritiska, koji uzrokuje postavljanje nogu i krila u pravilan položaj. Nakon nekoliko sekundi, dolazi do otvrdnjavanja kutikule i odrasla jedinka spremna je za let (Becker i sar., 2003). Presvlačenje i rast komaraca potpomognuti su i kontrolisani delovanjem endokrinih žlezda koje čine neurosekretorne ćelije mozga, *corpora cardiaca*, *corpora allata*, protorakalne žlezde i dr.



Slika 15. Životni ciklus komarca roda *Culex*  
 (foto: <http://www.infectionlandscapes.org/>)



## *Culex pipiens* Linnaeus

**Larva: Glava:** Antena je sužena distalno sa setama 1-A te pričvršćena u blizini vratnog dela; 5-6 dlake na glavi sa 5 ili više čuperaka. **Stomak:** Ljuske na combu međusobno spojene; Ljuske imaju izgled resastih iglica na završecima. **Sifon:** Sifon je kratak i blago konveksan, sa tri ili više parova čuperaka; pektenski zubići su nazubljeni; sifon je 4 do 6 puta duži, nego što je širina njegove baze.

**Ženke: Glava:** Proboscis sa kratkim, zlatno smeđim ljuskama. **Grudi:** Scutum prekriven sa zlatno smeđim ljuskama, posteriorni delovi scutum i scutelluma prekriveni su dugim bledim ljuskama. **Stomak:** svetle ljuspice na abdominalnom segmentu formiraju uski pojas koji prekriva manje od polovine svakog tergita **Noge:** cele prekrivene tamnim ljuskama. **Krila:** Krilne vene jednako prekrivene tamnim i uskim ljuskama

**Staništa:** veštački kontejneri (bazeni, burad, saksije za cveće, odbačene gume) i vode koje su privremeno stagnirajuće sa visokim sadržajem organskih ostataka; visoka tolerantnost na zagađenje

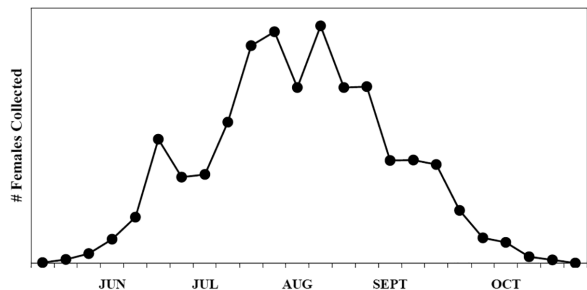
**Prezimljavanje:** Odrasle ženke prezimljavaju u vlažnim dobro zaštićenim tamnim prostorima, kao što su podrumi, stepeništa, bunker i dr.

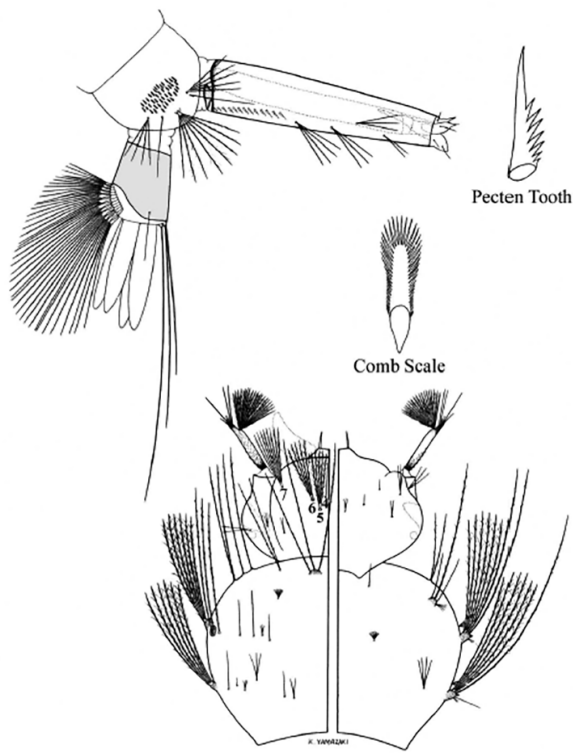
**Domaćin:** ptice, sisari i ljudi; najaktivniji u sumrak

**Virusi:** encephalitis, WNV

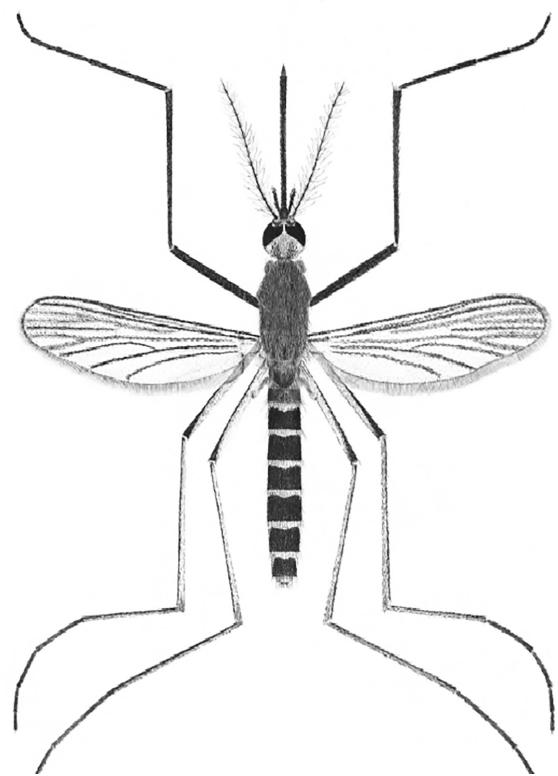
**Fenologija Larve:** Maj – Oktobar. **Odrasli:** tokom cele godine.

**Sezonska dinamika:**





*Larva*



*Odrasla ženka Culex pipiens*

## *Aedes vexans* (Meigen)

**Larva: Glava:** Antena je kraća od glavene kapsule, 5 ili 6 glavenih dlaka koje su raspoređene u dva ili više čuperaka; 6 glavena dlaka postavljena je anteriorno u dužini između 5 i 7 glavene dlake. **Stomak:** ljuške na combu imaju izgled trna, sa dugačkim apikalnim vrhom, obično ih se nalazi 12 ili manje; raspoređeni su nepravilnom pojedinačnom ili dvostrukom redu. **Sifon:** Sifon je oko polovine dužine bazalnog prečnika sifona; distalno su postavljeni pektenski zubići. Analni segment: nepotpuna sedla sa glatkom ventralnom prugom.

**Ženke: Glava:** Proboscis neotkriven, prekriven tamno smeđim ljuskama pri vrhu. **Grudi:** Scutum prekriven sa zlatno smeđim ljuskama, koje postaju jako bele pri kraju scutuma; postprokoksalne ljuške nedostaju, hipostigmalno područje bez ljuskica. **Stomak:** abdominalni tergiti prekriveni tamne ljuške koje pri bazama svakog tergita imaju bele pruge od ljuskica svetlije prljavo bele pruge, poslednji abdominalni segment pretežno tamne boje, sa uskom blegom apikalnom prugom. **Noge:** na tarsusima se nalaze blede bazalne trake, bazalni opseg na 2. tarsusu manji od od jedne četvrtine dužine celokupnog tarsusnog segmenta. **Krila:** Krilne vene prekrivene tamnim i uskim ljuskama. **Staništa:** poplava vrsta komarca, pronalaze se u raznim slatkovodnim vodama i depersijama na otvorenim staništima (npr. poplavljena polja, jezera, ceste na putu, šumska područja, bazeni).

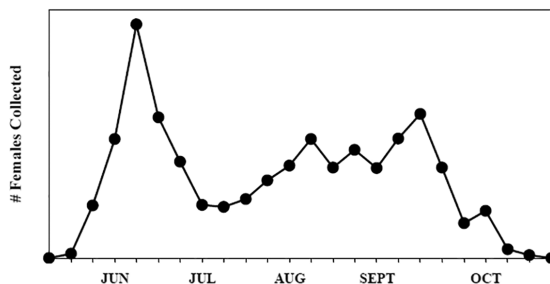
**Prezimljavanje:** Odrasle ženke polažu jaja na površinama koje će se plaviti narednu sezonu; prezimljavaju u obliku jaja

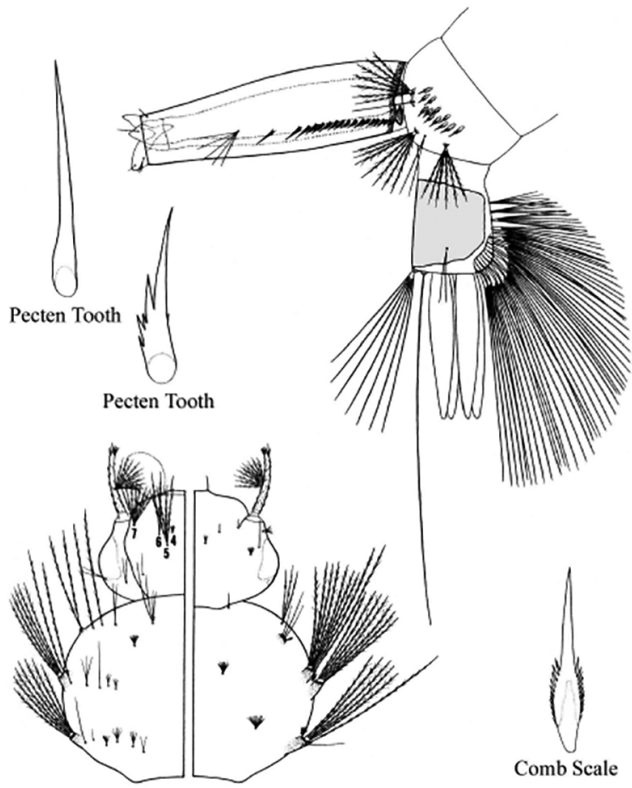
**Domaćin:** ljudi i sisari; dobri letači

**Virusi:** encephalitis, WNV

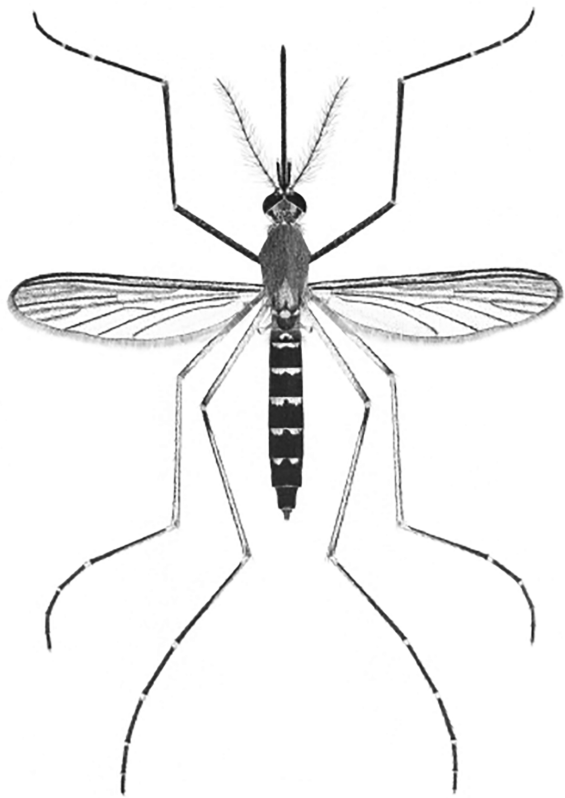
**Fenologija Larve:** April - Septembar. **Odrasli:** Maj - Oktobar.

**Sezonska dinamika:**





*Larva*

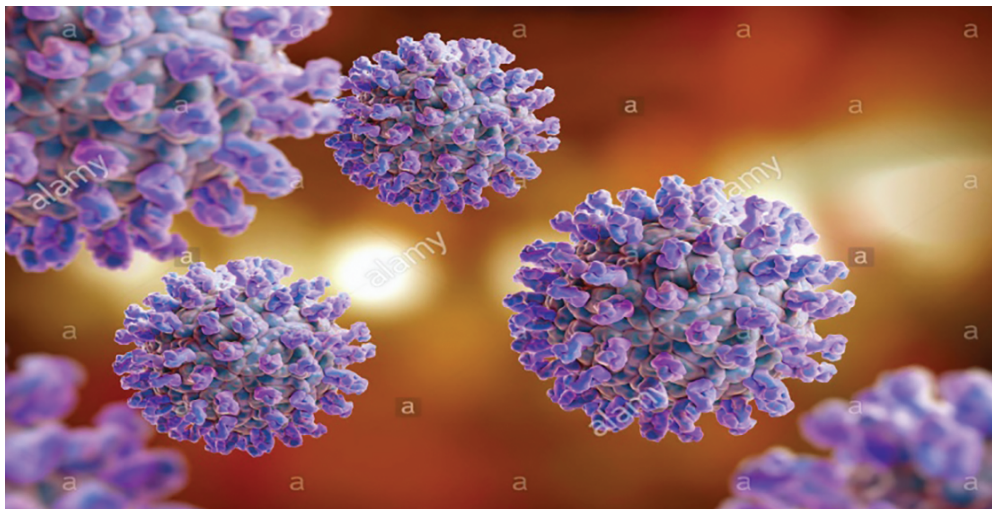


*Odrasla ženka Aedes vexans*

## 4. LABORATORIJSKA DIJAGNOSTIKA VIRUSA ZAPADNOG NILA

Groznicu zapadnog Nila je virusna infektivna bolest iz grupe zoonoza koju uzrokuje istoimeni virus (engl. West Nile virus, WNV). Virus zapadnog Nila spada u RNK viruse porodice *Flaviviridae*, rod *Flavivirus*, serokompleks Japanskog encefalitisa. Nakon Denga virusa, smatra se drugim najrasprostranjenijim flavivirusom na svetu.

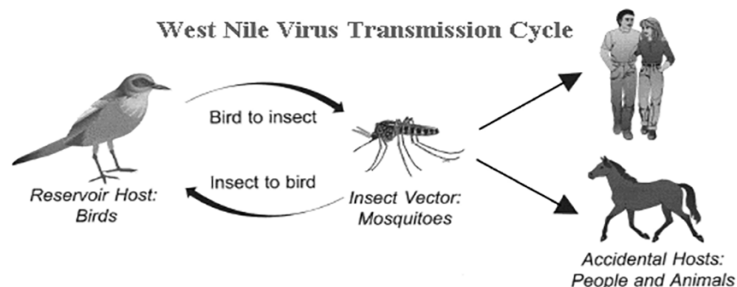
Genom mu se sastoji iz jednolančane, pozitivne RNK, od oko 12000 nukleotida koja kodira tri strukturna i sedam nestrukturnih proteina. Pripada grupi Arbovirusa (ARBO-Arthropode borne virus) koje prenose insekti, a ptice predstavljaju prave domaćine i rezervoare virusa u prirodi (Slika 16). To je heterogena grupa virusa koji su svrstani u 9 porodica i 20 rodova i mnogi od njih su uzročnici veoma važnih infektivnih oboljenja ljudi i životinja. Njihova rasprostranjenost zavisi od klimatskih faktora, prisustva vektora i prijemčivih organizama.



Slika 16. Virus zapadnog Nila

## 4.1. Prenos i rezervoar Virusa zapadnog Nila

Do infekcije dolazi ubodom zaraženog komarca, najčešće iz roda *Culex* u koji spada i tzv. „kućni komarac“, *Culex pipiens pipiens* (Slika 19), koji je kod nas najčešći vektor virusa. Virus uobičajeno cirkuliše između ptica i komaraca, a povremeno inficira i druge kičmenjake, uključujući ljude i druge životinje koji su prelazni, slučajni domaćini. Ljudi i sisari nemaju značajnu ulogu u prirodnom ciklusu kruženja virusa jer je nivo viremije prilikom njihove infekcije suviše nizak da bi se virus preneo na komarce prilikom uboda. Prenos sa čoveka na čoveka je moguć preko transfuzija krvi i krvnih produkata, transplantacijom, transplacetarno i dojenjem (Slika 17).



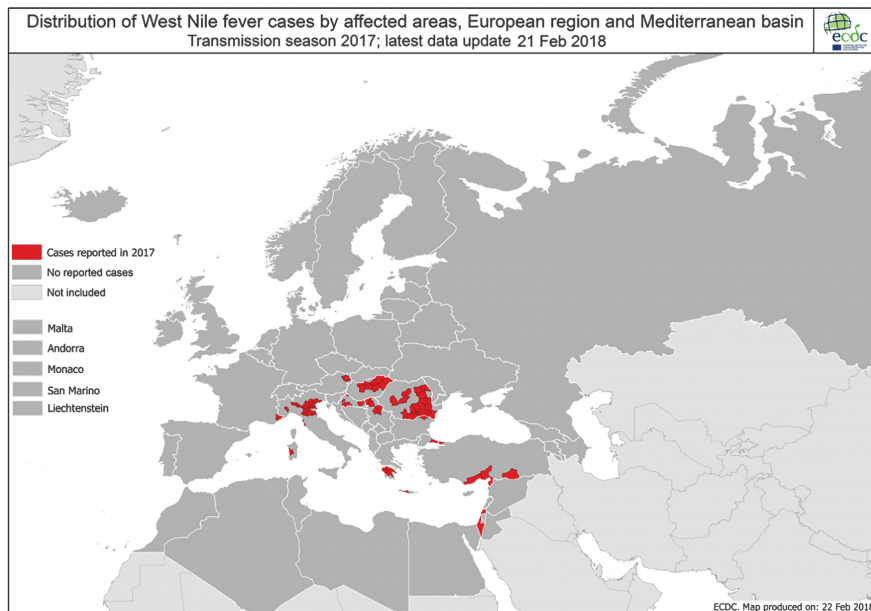
Slika 17. Ciklus prenosa Virusa zapadnog Nila (WNV)

## 4.2. Rasprostranjenost Virusa zapadnog Nila

Virus zapadnog Nila je prvi put izolovan i identifikovan 1937. godine u oblasti zapadni Nil u Ugandi po čemu je infekcija i dobila ime „Grozница zapadnog Nila“. Nakon tog perioda WNV se brzo širio po svetu tako da je danas prisutan na svim kontinentima osim Antartika. WNV je danas endemski prisutan na području Afrike, Azije, Evrope, Bliskog istoka, Australije, kao i na Američkom tlu. Svrstan je u 8 genetskih linija, od kojih su linija 1 i linija 2 široko rasprostranjene po svetu. Linija 1 zastupljena je u Evropi, severnoj Americi, severnoj Africi i

Australiji, dok je linija 2 bila endemska za južnu Afriku i Madagaskar, sve do 2004. godine kada je WNV linije 2 izolovan i identifikovan u Evropi. Od tada obe glavne linije WNV cirkulišu uzrokujući sporadične slučajeve i epidemije na području Evrope, među kojima posebno treba istaći epidemiju u Rumuniji, 1996.; Italiji 1998. godine; Rusiji 1999 .godine; Francuskoj 2000. godine; Grčkoj 2010. godine, kao i epidemije u Republici Srbiji 2012. i 2013. godine.

U Srbiji je WNV linije 2 prvi put je detektovan u komarcima 2010. godine, a u humanoj populaciji 2012. godine. Iako je WNV prisutan u Evropi decenijama, broj i učestalost epidemija sa ozbiljnim neuroinvazivnim posledicama za ljude i životinje je u poslednje vreme znatno povećan predstavljajući ozbiljan javno zdravstveni problem (Slika 18).



Slika 18. Epidemiološka slika groznice Zapadnog Nila u Evropi i na Mediteranu 2017. godine (izvor: ECDC)

### 4.3. Groznica zapadnog Nila

Groznica zapadnog Nila je zoonoza sezonskog karaktera povezana sa periodima aktivnosti vektora u prirodi. U rizičnu grupu ubrajamo populaciju koja je zbog boravka u prirodi češće izložena ubodima komaraca. Na našem području period aktivnosti komaraca je od maja do oktobra meseca, kada se može očekivati i najveći broj klinički manifestnih slučajeva bolesti kod ljudi i životinja sa najvećom zastupljenošću tokom jula i avgusta. Epidemije se javljaju sezonski tokom leta i rane jeseni, a starije osobe i imunokompromitovani su u većem riziku od razvoja teške forme ovog oboljenja i letalnog ishoda. Faktori rizika za infekciju kod ljudi su: dužina boravka u prirodi, ne korišćenje ili neredovna upotreba repelenata, stanovanje u kućama sa poplavljenim podrumom i prisustvo komaraca u stanu.

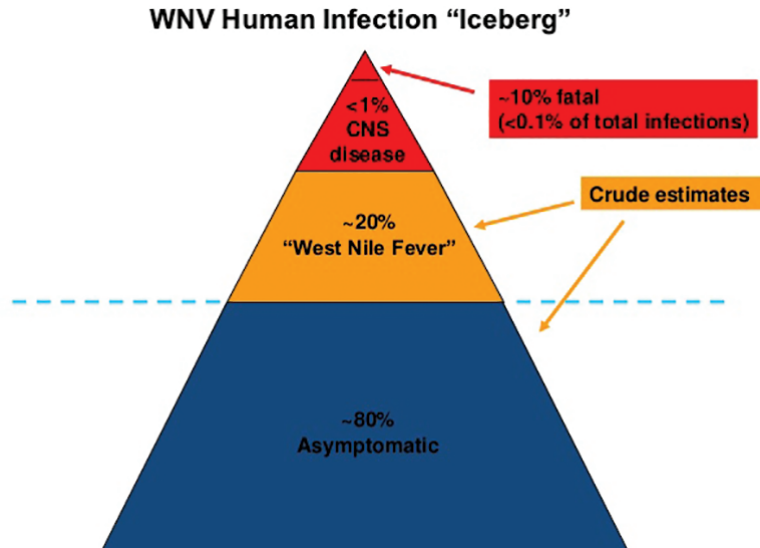


*Slika 19. Culex pipiens pipiens*

Kod najvećeg broja inficiranih ljudi infekcija najčešće protiče bez znakova i simptoma bolesti (80-90% slučajeva). Kod malog broja inficiranih osoba (do 20%) se pojavljuju klinički znaci i simptomi koji mogu biti u vidu povišene telesne temperature, slabosti i malaksalosti, glavobolje, bolova u mišićima i zglobovima, povraćanja, bola u stomaku, dijareje, kao i bola u grlu, limfadenopatije i osipa po koži grudima, trbuhu i leđima. Inkubacioni period iznosi od 3 do 14 dana nakon uboda zaraženog komarca.

Teške neuroinvazivne forme koje su zastupljene u manje od 1% slučajeva se manifestuju kao encephalitis, meningitis i akutna flacidna paraliza, mogu dovesti do smrtnog ishoda u 10 do 15% slučajeva. Klinička slika neuroinvazivne forme ove infekcije obuhvata povišenu telesnu temperaturu, glavobolju, ukočenost vrata, dezorijentisanost, konvulzije, slabost mišića, tremor, paralizu, komu (Slika 20).





Slika 20. Klinička slika groznice zapadnog Nila

### 4.3.1. Lečenje WNV

Lečenje groznice zapadnog Nila je simptomatsko, a u težim slučajevima potrebna je hospitalizacija. Specifična zaštita (vakcina, imunoglobulin) protiv ove infekcije ne postoji.

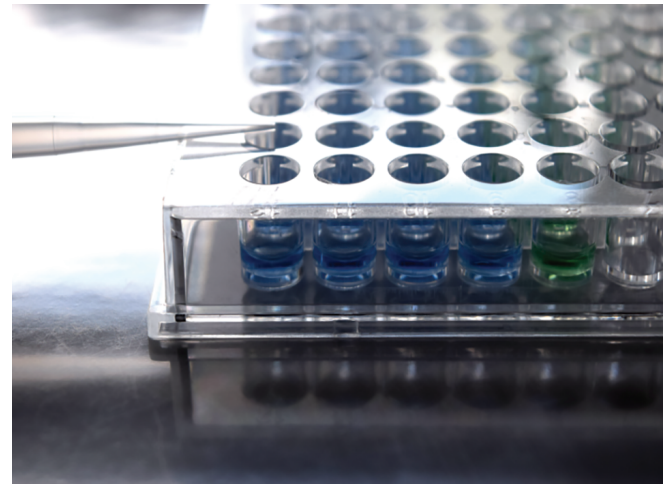
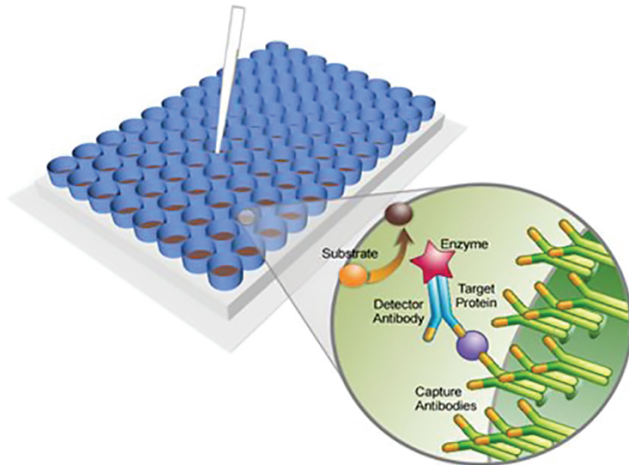
Najlakši i najbolji način prevencije WNV infekcije je sprečavanje uboda komaraca. U tom cilju se sprovode mere lične zaštite: sredstva protiv komaraca (repelenti), zaštitna odeća svetlijih boja koja podrazumeva duge rukave, nogavice i čarape, upotreba zaštitne mreže i adekvatne kamp opreme. U cilju uspešnosti nadzora i sprečavanja širenja groznice zapadnog Nila neophodna je brza detekcija i identifikacija uzročnika.

### 4.3.2. Dijagnostika WNV infekcije

Dijagnostika WNV infekcije podrazumeva primenu indirektnih (serološka dijagnostika) i direktnih laboratorijskih ispitivanja (izolacija virusa, detekcija virusne nukleinske kiseline, detekcija virusnih antigena).

#### Indirektna dijagnostika

• *Serološke metode*, koja pružaju mogućnost *indirektno* dijagnostike patogena kod živih jedinki, služe za utvrđivanje prisustva specifičnih antitela za WNV. S obzirom da Arbovirusi uzrokuju kratkotrajnu viremiju, dijagnoza se uglavnom postavlja na osnovu seroloških testova. Najčešće se koriste IgM i IgG imunoenzimski testovi (engl. *enzyme-linked immunosorbent assay*, ELISA (Slika 21)) i test indirektno imunofluorescencije (engl. *indirect immunofluorescence assay*, IFA).



Slika 21. ELISA

Može se koristiti i metoda hemaglutinacije i inhibicije hemaglutinacije, neutralizacija virusa u mikrotitar pločama (VNT-virus neutralizacijski test) i metoda redukcije i neutralizacije plaka (engl. *plaque-reduction neutralization test*, PRNT), koja se smatra najspecifičnijom za otkrivanje specifičnih antitela za WNV.

Međutim, pri tumačenju rezultata seroloških testova treba imati u vidu da postoji mogućnost unakrsne reaktivnosti sa drugim virusima, posebno onih koji pripadaju istoj serogrubi (virus Japanskog encefalitisa, virus žute groznice, Usutu i dr.). Iz tog razloga izvođenje samo jedne serološke metode nije dovoljno za sigurno postavljanje dijagnoze. Svaki reaktivni test je potrebno potvrditi neutralizacionim testom i neutralizacionim testom redukcije plakova.

Upotreba seroloških testova omogućava praćenje cirkulisanja virusa zapadnog Nila u humanoj i animalnoj populaciji na određenoj teritoriji i utvrđivanje njegove rasprostranjenosti što daje mogućnost blagovremenog delovanja i sprovođenja mera u cilju suzbijanja vektora-komaraca i sprečavanja širenja bolesti.

### Direktna dijagnostika virusa

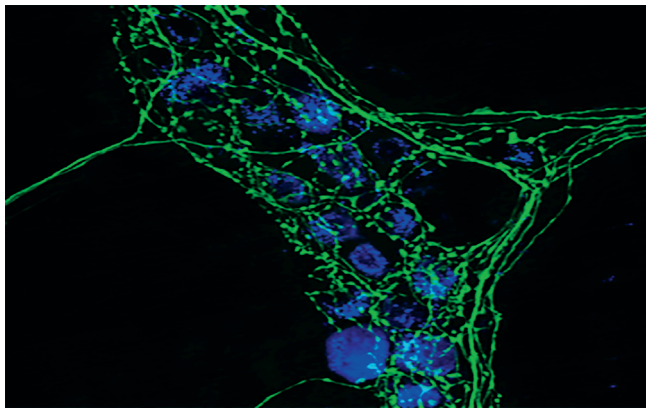
- Direktna dijagnostika virusa, koja podrazumeva:
  - Izolaciju uzročnika u *in vivo* i *in vitro* sistemima (embri-onisana kokošija jaja i kulture ćelija);

Detekcija uzročnika putem izolacije u *in vivo* i *in vitro* sistemima zavisi od adekvatno dobijenog materijala, tako da u dijagnostici oboljenja kod živih ljudi i životinja ima ograničen značaj. Pokušaj izolacije iz krvi nije uspešan zbog kratkotrajne viremije, dok organi uginulih životinja mogu poslužiti kao adekvatan materijal za uspešnu izolaciju. Za izolaciju virusa su uglavnom potrebni biosigurnosni uslovi trećeg stepena (BSL-3), pa se ona može sprovesti samo u referentnim laboratorijama.



Slika 22. Medijum

- *Imunohistohemijske metode* dokazivanja uzročnika vrše se bojenjem isečaka tkiva fiksiranih u parafinu. Specifičnost detekcije zavisi od vrste antitela koja se koriste (Slika 23).



Slika 23. *Imunohistohemija*

### 4.3.3. Dijagnostike WNV u tkivu komaraca:

Ribonukleinska kiselina (RNK) WNV se može dokazati iz različitih kliničkih uzoraka (plazma, serum, bela krvna zrnca, likvor), humanog i animalnog tkiva (postmortalno), tkiva vektora-komaraca. Nakon prikupljanja i evidentiranja uzoraka, u cilju očuvanja biološkog materijala, pulovi komaraca moraju biti transportovani i skladišteni na odgovarajući način koji podrazumeva transport na temperaturi +4 do +8 °C. Skladištenje uzoraka vrši se na temperaturi od +2 do -8 °C ne duže od 12 časova, ili zamrzavanjem na -20 do -80 °C do konačne analize uzorka.

Nakon odgovarajuće homogenizacije uzorka u sterilnom fosfatnom puferu ili fiziološkom rastvoru, izolacija i identifikacija virusne nukleinske kiseline može se vršiti primenom različitih protokola „in house“ testova, kao i različitih komercijalnih dijagnostičkih kitova prema uputstvu proizvođača, koji se danas koriste širom sveta.



*Slika 24. Molekularna dijagnostika*

Primena molekularno bioloških testova je savremen i brz način dokazivanja uzročnika (Slika 24). Ovi testovi se zasnivaju na dokazivanju specifičnih ciljnih sekvenci genoma virusa u odgovarajućem uzorku. Koristi se klasični RT-PCR (engl. reverse-transcriptase polymerase chain reaction, RT-PCR), odnosno, lančana reakcija polimeraze u realnom vremenu (engl. real time RT-PCR). RT-PCR u realnom vremenu, u poređenju sa klasičnom metodom, ima veću senzitivnost i specifičnost i daje mogućnost kvantitativnog određivanja broja virusne nukleinske kiseline. Pored visoke senzitivnosti i specifičnosti odlikuje ih i kratko vreme do dobijanja konačnog rezultata analize. RT-PCR je metoda izbora u molekularnoj dijagnostici virusa zapadnog Nila.

#### 4.3.4. PCR - POLIMERAZA LANČANA REAKCIJA

PCR (eng. *Polymerase Chain Reaction*) predstavlja replikaciju (umnožavanje) DNK molekula in vitro. Komponente potrebne za izvođenje PCR-a su:

- *DNK matrica* – dvostruki DNK lanac koji predstavlja obrazac za kopiranje komplementarnog lanca;
- jednolančani *prajmeri* – sekvence oligonukleotida čije su sekvence komplementarne krajevima DNK sekvence koja se želi umnožiti;
- smeša slobodnih *dezoksinukleotida*;
- enzim *DNK polimeraza* koja vrši sintezu novih DNK lanaca;
- odgovarajući *pufer* sa obaveznim sadržajem *magnezijum-hlorida*;
- *interkalacione boje* (LCGreen, SYBR green) na osnovu kojih se vrši analiza dobijenog uzorka.

U PCR metodi se koristi DNK polimeraza koja je izolovana iz bakterije *Thermus aquaticus* (Taq polimeraza). Ova bakterija živi u termalnim vodama na temperaturi od oko 70 °C, usled čega je u stanju da vrši replikaciju DNK molekula na visokim temperaturama. Reakciona smeša napravljena od navedenih komponenti procesuirana se pomoću aparata Thermocycler kroz seriju ciklusa koji omogućavaju tok reakcije. Svaki ciklus se sastoji od tri koraka:

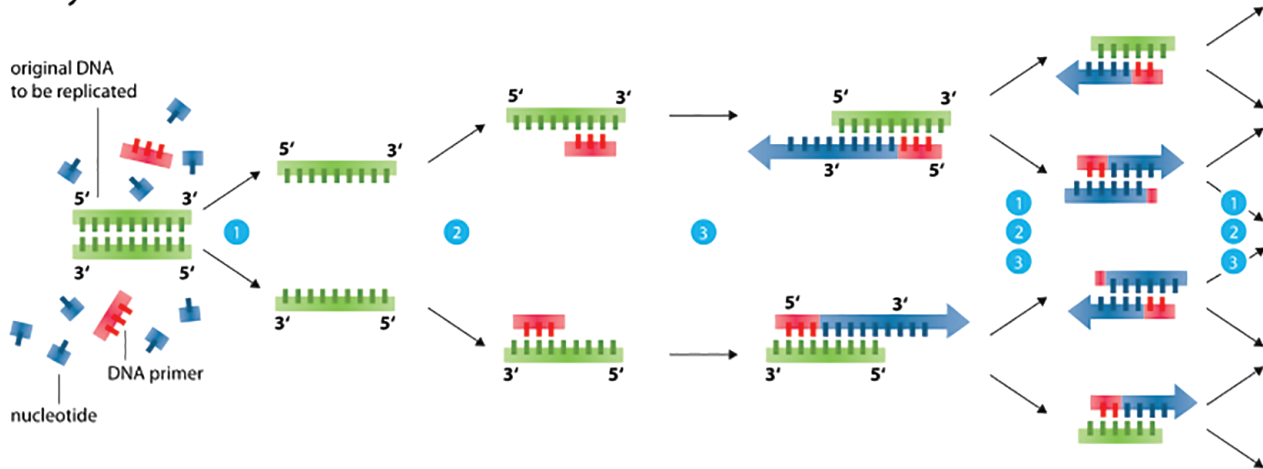
• **Zagrevanje** reakcione smeše na 94–96 °C u cilju razdvajanja dvostrukih lanaca DNK matrice. Ova faza traje oko 1 minut i naziva se denaturacija.

• **Hlađenje** reakcione smeše na 40–60 °C u cilju vezivanja prajmera. Prajmeri imaju obično u sekvenci 20 i više nukleotida, što omogućava specifičnost, tj. vezivanje za željeno mesto. Ova faza traje oko 30 sekundi.

• **Zagrevanje** reakcione smeše na 72 °C, pri čemu je Taq polimeraza započinje polimerizaciju, odnosno, popunjava prazna mesta, počevši od početnog prajmera pa nadalje duž celog DNK lanca (elongacija). Trajanje ove faze zavisi od dužine fragmenta koji se želi umnožiti i iznosi 1-2 minuta (Slika 25).

U cilju izbegavanja dobijanja lažno pozitivnih ili lažno negativnih rezultata mora se voditi računa o pravilnom postavljanju i izvođenju metode. Tome služe protokoli za izvođenje PCR reakcije. Neophodno je pravilno postavljanje i opremanje laboratorije, adekvatan odabir i pravovremeno proveravanje ispravnosti opreme i reagenasa, njihovo pravilno čuvanje i skladištenje, kao i dobro obučeno osoblje.

# Polymerase chain reaction - PCR



- 1 Denaturation at 94-96°C
- 2 Annealing at ~68°C
- 3 Elongation at ca. 72 °C

Slika 25. Faze polimeraza lančane reakcije - PCR

### 4.3.5. Postavka PCR reakcije

Prilikom odabira mesta za izvođenje PCR-a u laboratoriji neophodno je voditi računa o izvorima kontaminacije. Za različite faze PCR-a trebalo bi koristiti odvojene prostorije i obezbediti kretanje uzorka u jednom smeru: od prostorije u kojoj se vrši obrada uzorka, preko prostorije u kojoj se vrši izolacija nukleinskih kiselina, u prostoriju u kojoj se vrši priprema reagenasa i na kraju u prostoriju u kojoj se nalazi termosajkler i izvodi PCR. U istom cilju, smanjenja kontaminacije, osoblje treba uvek da nosi zaštitnu odeću (skafander) i rukavice (bez talka) čime se mogućnost kontaminacije svodi na najmanju moguću meru. Prilikom procesa rada, potrebno je dovoljno često menjati rukavice i pažljivo rukovati sa uzorcima i reagensima. Za dekontaminaciju mesta izvođenja PCR-a koristi se 1% rastvor natrijum-hipohlorita i UV lampa.

Faze PCR reakcije:

- *Prva faza* podrazumeva pripremu uzorka.
- *Druga faza* podrazumeva ekstrakciju nukleinskih kiselina iz uzorka. Ova faza je najosetljivija faza PCR-a i podložna je kontaminaciji.
- *Treća faza* podrazumeva pripremu reagenasa i postavku PCR reakcije, tok reakcije u Thermocycler-u i detekciju PCR produkata.

### 4.3.6. Oprema za PCR

PCR aparat (Thermocycler) reguliše uslove za odvijanje svake reakcije. Reagensi koji se koriste za izvođenje PCR-a mogu se podeliti na one koji su neophodni za izvođenje same reakcije i one koji se koriste za detektovanje proizvoda reakcije. Poželjno je koristiti reagense (prajmere, probe i enzim Taq polimerazu) od pouzdanih proizvođača i obavezna je upotreba vode koja je oslobođena od enzima nukleaza koji mogu degradirati nukleinske kiseline. Frižider je neophodan za adekvatno čuvanje i skladištenje reagenasa (+ 4 °C do + 8 °C i - 20 °C), a prilikom rada se najčešće koristi nekoliko setova pipeta. Neophodno je voditi računa



o ispravnosti svih aparata u PCR laboratoriji i vršiti redovna etaloniranja automatskih pipeta kao i redovne kalibracije termosajklera predviđene uputstvom proizvođača. Analize koje se izvode u laboratoriji moraju biti u skladu sa radnom procedurom koja jasno definiše način rada.



*Slika 26. UV sterilizacioni PCR box*



*Slika 27. Aparat za molekularnu dijagnostiku*

Izbor najadekvatnijih dijagnostičkih metoda je od suštinskog značaja za brzu i pravovremenu reakciju u cilju zaštite zdravlja ljudi i životinja i kontrole ovog oboljenja. Zbog svega navedenog, veoma je bitno uspostaviti i unaprediti nadzor nad ljudima i životinjama, kontrolu populacije vektora i vršiti edukaciju stručne i opšte javnosti.

## ZIKA VIRUS

Zika virus pripada familiji Flaviviridae, rodu Flavivirus, serokompleksu Spondweni.

Prvi put je izolovan 1947. godine iz majmuna, na području šume Zika u Ugandi. Nakon tog perioda, do 2007.godine se održavao na području Afrike u enzootskom ciklusu uz sporadične slučajeve u humanoj populaciji. Prva epidemija koja se beleži van teritorije Afrike i Azije je 2007.g. na ostrvu Yap, Mikronezija, zatim na ostrvima Pacifika, a 2015.g. u Južnoj Americi, Brazilu i Kolumbiji.

Zika virus se u prirodnom ciklusu održava između majmuna i komaraca različitih vrsta iz roda *Aedes*. Zika virus se prenosi ubodom zaraženog komarca iz roda *Aedes* (*Ae. aegypti* i *Ae. albopictus*), dok su rezervoar virusa u urbanom ciklusu ljudi. Prenos virusa je moguć i sa inficirane majke na plod tokom trudnoće (transplacentarno i dojenjem), kao i seksualnim kontaktom, transfuzijom i transplantacijom.

Perioda inkubacije iznosi od 3 do 12 dana, nakon uboda zaraženog komarca. Većina slučajeva infekcije protiče asimptomatski 60-80%. Ukoloko dođe do manifestacije oboljenja, kliničku sliku karakteriše nespecifično febrilno stanje koje najčešće traje od 2 do 7 dana i koje može biti praćeno slabošću i malaksalošću, glavoboljom, osipom, bolovima u mišićima i zglobovima, konjuktivitisom. Bolest najčešće prolazi spontano. Slučajevi hospitalizacije su retki, a pojava fatalnih slučajeva nije karakteristična.

Tokom epidemije Zika virusom u nekim zemljama zabeležena je veća učestalost neuroloških poremećaja kao što je Guillian Barréov sindrom i moguća povezanost sa neurološkim poremećajima kao što su meningitis, meningoencefalitis i mijelitis, naročito kod imunokompromitovanih osoba, male dece i strajih lica. Infekcija nastala tokom trudnoće može dovesti do spontanog pobačaja, prevremenog porođaja ili kongenitalnih malformacija, kao što je mikrocefalija.

Dijagnostika infekcije uzrokovane Zika virusom podrazumeva direktne (izolacija virusa, detekcija antitela i molekularna dijagnostika) i indirektne metode (serološka dijagnostika). Zbog mogućih ukrštenih reakcija sa drugim flavivirusima, reaktivne serološke rezultate je potrebno potvrditi neutralizacionim testovima ili u toku prvih 7 dana bolesti RT-PCR.

Lečenje Zika virusne infekcije je simptomatsko (analgetici, antipiretici).

Specifična zaštita (vakcina, imunoglobulin) protiv ove infekcije ne postoji. Najlakši i najbolji način prevencije Zika virusne infekcije je sprečavanje uboda komaraca. U tom cilju se sprovode mere lične zaštite od uboda komaraca i suzbijanje komaraca, izbegavanje putovanja u područja sa Zika virusnom infekcijom i nadzor nad putnicima iz tih regiona.

## 5. LITERATURA

Al-Sarar AS, Al-Shahrani D, Bayoumi AE, Abobakr Y & Hussein HI (2011): Laboratory and field of some chemical and biological larvicides against *Culex* spp. (Diptera: Culicida immature stages. Int. J. Agric. Biol., 13: 115–119.

Becker N, Petrić D, Zgomba M, Boase C, Madon M, Dahl C. & Kaiser A. (2003): Mosquitoes and their control. Springer Verlag, Heidelberg. Pp 498.

Becker N, Petrić D, Zgomba M, Boase C, Madon M, Dahl C. & Kaiser A. (2010): Mosquitoes and their control. Second Edition. Springer Verlag, Heidelberg ISBN 978-3-540-92873-7. pp579.

Bidlingmayer WL & Evans DG (1987): The distribution of female mosquitoes about a flight barrier. J Am Mosq Control Assoc 3 3:369-377.

Chong Jia-Rui (2007): "Tropical Virus Kills Italian Man", Tampa Bay Online, 2007-12-29. Retrieved on 2009-01-04

Clements AN (1992): The biology of mosquitoes. Vol.1 Development, Nutrition and reproduction. Chapman and Hill, London, 509 pp.

Clements AN (1999): The Biology of Mosquitoes. Sensory Reception and Behaviour Volume 2. Wallingford: CAB International, New York, 548 pp

Dahl C, Widahl LE & Nilsson C (1978): Functional analysis of the suspension feeding system in mosquitoes (Diptera: Culicidae). Ann Ent Soc Am 81:105-127.

Dauphin G, Zientara S, Zeller H & Murgue B (2005): West Nile: world-wide current situation in animals and humans. Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis. 28: 249-250.

Enserink M (2007): Tropical disease follows mosquitoes to Europe. Science 317:1485 Epidemic in southeastern Romania. Lancet 352:767-771

Gillett JD (1983): Abdominal pulses in newly emerged mosquitoes *Aedes aegypti*. Mosq News 43:359-361

Gillett S (1983): Primer pheromones and polymorphism in the desert locust. Anim. Behav., 31, 221–230

Gomes B, Sousa CA, Vicence JL, Pinho L, Calderon I, Arez E, Almeida APG, Donnelly M & Pinto J (2013): Feeding patterns of molestus and pipiens forms of *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae) in a region of high hybridization. Parasites & Vectors.,6:93.

Gratz N (2003): The vector-borne human infections of Europe, their distribution and burden on public health. WHO. 154 pp

Gutsevich AV, Monchadskii AS & Shtakel'berg AA (1976): Fauna of the U.S.S.R. Diptera Mosquitoes Family Culicidae. Academy of Sciences of the USSR, Zoological Institute, Keter Publishing House, Jerusalem, 408 pp.

Harbach RE (2014): Mosquito Taxonomic Inventory ([www.mosquito-taxonomic-inventory.info/](http://www.mosquito-taxonomic-inventory.info/))

Harbach RE, Dahl C & White GB (1985): *Culex* (*Culex*) *pipiens* Linnaeus (Diptera: Culicidae): concepts, type designations, and description. Proceedings of the Entomological Society of Washington.87:1–24.

Harbach RE, Harrison BA & Gad AM (1984): *Culex* (*Culex*) *molestus* Forskål (Diptera, Culicidae) - neotype designation, description, variation, and taxonomic status. Proc Entomol Soc Wash.,86:521–542.

Harwood R F & James MT (1979): Entomology in Human and Animal Health. Macmillan Publishing

- Jeličić-Marinković Ž, Hackenberger-Kutuzović B, Merdić E 2014: Maximum radius of carbon dioxide baited trap impact in woodland: implications for host-finding by mosquitoes. *Biologia* 69 4: DOI: 10.2478/s11756-014-0330-7
- Knols BGJ & Takken W (2007): Alarm bells ringing: more of the same, and new and novel diseases
- Mohrig W (1969): Die Culiciden Deutschlands. *Parasitol Schriftenreihe* 18, 260 pp.
- Olejniček J (1990). The effect of age on the fertility of males of *Culex molestus* (Diptera, Culicidae). *Folia Parasitol.* 37,4:355-367.
- Petrić D, Srdić Ž & Zgomba M (1986): Mosquito (Diptera, Culicidae) CO<sub>2</sub> traps as method for faunistical studies and density evaluation. Abstract Volume, First International Congress of Dipterology. Budapest. 187-188.
- Petrić D, Zgomba M & Srdić Ž (1986): Physiological condition and mosquito mortality of *Culex pipiens* complex (Diptera: Culicidae) during hibernating time. *Proc. 3rd Europ Congress of Entomol, Amsterdam.* 188-189.
- Petrović T, Lupulović D, Petrić D, Vasić A, Hrnjaković Cvjetković I, Milošević V, Vidanović D, Šekler M, Lazić S, Đuričić B, Plavšić B & Saiz JC (2015): WNV infection - an emergent vector borne viral infection in Serbia: Current situation. *Vet. glasnik* 69 (1-2) 111-26
- Reisen WK, Meyer RP & Milby MM (1986): Overwintering studies on *Culex tarsalis* (Diptera, Culicidae) in Kern County, California-survival and the experimental induction and termination of diapause. *Ann Entomol Soc Am.*,79:664-673.
- Schaefer CH & Washino RK (1970): Synthesis of energy for overwintering in natural populations of the mosquito *Culex tarsalis*. *Comp Biochem Physiol.*,35:503-506.
- Service MW (1969): Mosquito Ecology, Field Sampling Methods. Xalsted Press. 324-342
- Srdić Ž, Zgomba M & Petrić D (1986): Les mostiques (Dip. Culicidae) et la demoustication en Vojvodine (Yugoslavie). Rapports generaux et communications IV-e Congres sur la protection de la sante humaine et des cultures en mileu tropical. Marseille. 489-494.
- Takken W & Knols BGJ (2010): Olfaction in vector-host interactions. Ecology and control of vector-borne diseases. Volume 2. Wageningen Academic Publisher, pp. 417.
- Tamarina NA & Fedorova MV (1983): Reproductive isolation in blood-sucking mosquitoes. In: Nartshuk, EP (ed.), Dipterous insects, their systematics, geographical distribution and ecology. Leningrad, pp. 128-130.
- Telford AD (1963): A consideration of diapause in *Aedes nigromaculis* and other aedine mosquitoes (Diptera: Culicidae). *Ann Ent Soc Am* 56(4):409-418.
- Tsai T F, Popovici F, Cernescu C, Campbell GL & Nedelcu NI (1998): West Nile encephalitis
- Van den Broek (2000). Olfactory sensitivity in *Anopheles* mosquitoes with different host preferences. PH. D. thesis Wageningen Agricultural University. The Netherlands. Department of Entomology 125pp
- Vinogradova EB (2000): *Culex pipiens pipiens* mosquitoes: taxonomy, distribution, ecology, physiology, genetics, applied importance and control. Pensoft; Sofia, Bulgaria.